

**AUS DEM LEHRSTUHL FÜR ORTHOPÄDIE
PROF. DR. MED. DR. H.C. JOACHIM GRIFKA
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG**

**Tierexperimentelle Untersuchung zur Wirksamkeit der
Kombinationstherapie von Moxifloxacin und Rifampicin
versus Flucloxacillin und Rifampicin
bei der Behandlung von periprothetischen Infektionen**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Christine Scheuerer

2011

**AUS DEM LEHRSTUHL FÜR ORTHOPÄDIE
PROF. DR. MED. DR. H.C. JOACHIM GRIFKA
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG**

**Tierexperimentelle Untersuchung zur Wirksamkeit der
Kombinationstherapie von Moxifloxacin und Rifampicin
versus Flucloxacillin und Rifampicin
bei der Behandlung von periprothetischen Infektionen**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Christine Scheuerer

2011

Meinem Großvater Robert Plechaty

Dekan: Prof. Dr. Bernhard Weber

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Joachim Grifka

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Udo Reischl

Tag der mündlichen Prüfung: 08. August 2011

1. EINLEITUNG	1
1.1 Periprothetische Infektionen	1
Definitionen: Arthrose und Endoprothese.....	1
Epidemiologie der Protheseninfektion	2
Einteilung	2
Bedeutung für den Patienten	3
Pathogenese	3
Die Bedeutung des Biofilms	4
Diagnose.....	6
A) Laborchemie.....	6
B) Histopathologie	6
C) Mikrobiologie.....	7
D) Bildgebung	8
Therapie.....	9
A) Allgemeines	9
B) Antibiotikatherapie.....	12
C) Lokale Therapie.....	15
Prävention der Protheseninfektion	15
1.2 Tiermodelle zur Protheseninfektion	17
1.3 Antibiotika.....	21
Moxifloxacin	21
Flucloxacillin.....	24
Rifampicin.....	26
1.4 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit	29
2. MATERIAL UND METHODEN	30
2.1 Material	30
Versuchstiere und Tierhaltung	30
Implantate.....	30
Bakterienstamm.....	31
Medikamente	31
Gebrauchs-und Verbrauchsmaterialien	32
Geräte	33

Software	33
2.2 Methoden.....	33
Studiendesign und Versuchsplan	33
Vorversuche zur Überprüfung der Keimzahlbestimmung bei zwischenzeitlichem Einfrieren der Gewebeprobe.....	34
Vorversuche zur Dosisfindung.....	34
Körpergewichtskontrollen.....	35
Applikation der Antibiotika	35
Entnahme der Gewebeprobe	35
Bestimmung der Antibiotika-Konzentration in Gewebe und Plasma am Beispiel von Moxifloxacin	35
Hauptversuche	36
Vorgehen und Zeitplan.....	36
A) Berechnung der Gruppengröße	37
B) Gruppenbildung.....	37
C) Abbruchkriterien	38
D) Körpergewichtskontrollen.....	38
Herstellung der Bakteriensuspension	38
Intramedulläre Prüfkörperimplantation und bakterielle Kontamination.....	39
Applikation der Antibiotika	41
Fremdkörperexplantation	41
Mikrobiologische Analyse	42
Aufarbeitung der Knochen- und Weichteilproben	42
Aufarbeitung des Implantats	42
Verfahren zur Keimzahlbestimmung in der Gewebs- und Biofilmsuspension.....	42
Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration	43
Statistische Auswertung und Dokumentation	43
3. ERGEBNISSE.....	44
3.1 Vorversuche zur Überprüfung der Keimzahl bei zwischenzeitlichem Einfrieren der Gewebeprobe	44
3.2 Ergebnisse der pharmakologischen Vorversuche	44
Entwicklung des Körpergewichts im Versuchsverlauf	44

Flucloxacillin.....	44
Moxifloxacin	45
3.3 Hauptversuche.....	47
Prüfkörperimplantation	47
Wundheilung und postoperatives Verhalten der Versuchstiere	47
Applikation der Antibiotika	48
Entwicklung des Körpergewichts in Versuchsverlauf	48
Makroskopische Befunde bei der Fremdkörperexplantation	49
Radiologische Befunde	50
Mikrobiologische Befunde.....	50
A) Periartikuläres Weichteilgewebe.....	51
B) Femur	53
C) Implantat.....	55
D) Resistenzentwicklung im Verlauf der Versuche.....	57
3.4 Zusammenfassung der Ergebnisse	57
4. DISKUSSION	59
4.1 Zum Tiermodell.....	59
4.2 Zur Antibiose.....	62
4.3 Fazit.....	68
4.4 Zur Übertragbarkeit.....	68
5. ZUSAMMENFASSUNG.....	69
6. LITERATURVERZEICHNIS	71
ANHANG.....	77
Abkürzungsverzeichnis	77
Abbildungsverzeichnis	78
Danksagung	80
Curriculum vitae.....	81

1. EINLEITUNG

1.1 Periprothetische Infektionen

Definitionen: Arthrose und Endoprothese

Durch Verschleiß im Alter, aber auch durch präarthrotische Deformitäten wie angeborene Gelenkfehlstellungen (z. B. Hüftdysplasie) oder Frakturen mit Beteiligung der Gelenkflächen sowie durch destruierende Arthritiden kommt es zur zunehmenden Zerstörung des Gelenkknorpels und direktem Kontakt der darunterliegenden Knochenenden, die subchondral reaktiv eine Sklerosierung zeigen. Durch Einbruch von Knorpelfragmenten in den darunterliegenden Knochen entstehen Geröllzysten. Im Randbereich kommt es im Sinne einer Abstützreaktion zu knöchernen Anbauten, sog. Osteophyten. Im Röntgenbild zeigen sich die typischen Zeichen der Arthrose in Form von Verschmälerung des Gelenkspalts, subchondraler Sklerosierung, Geröllzysten und osteophytären Anbauten. Im Endstadium kommt es zu einer Destruktion des betroffenen Gelenks.

Patienten mit Arthrose haben zunächst Schmerzen bei Belastung, später auch in Ruhe, wobei die Schmerzen typischerweise bei Beginn einer Bewegung am stärksten sind (sog. Anlaufschmerzen). Weiterhin kommt es zu einer Einschränkung des Bewegungsumfanges im betroffenen Gelenk. Dadurch werden die Patienten in der Ausübung sportlicher Aktivitäten, später auch in Alltag eingeschränkt.

Die effektivste Therapie ist der Ersatz des destruierten Gelenks durch ein künstliches Gelenk. Hierfür stehen verschiedene Formen zur Verfügung, vom Oberflächenersatz bis zum Ersatz des kompletten Gelenks in Form einer Totalendoprothese (TEP). Die Prothesenteile bestehen aus Keramik, Titan oder Stahl und können mit oder ohne Verwendung von Knochenzement eingebracht werden [1].

Im Jahr 2009 sind in Deutschland geschätzt insgesamt ca. 210.000 Erstimplantationen am Hüftgelenk sowie ca. 175.000 Erstimplantationen am Kniegelenk erfolgt. Zusätzlich wurden etwa 30.000 Revisionsoperationen am Hüftgelenk und 23.000 Revisionsoperationen am Kniegelenk durchgeführt [2]. Seit der ersten Implantation einer Endoprothese in Deutschland in den 1960er Jahren durch Buchholtz hat sich die Operationstechnik immer weiter verbessert und die Anzahl von Implantationen nimmt stetig zu und wird aufgrund der demographischen Entwicklung auch weiterhin ansteigen. Aktuell beträgt die Lebensdauer einer Endoprothese ca. 15 Jahre.

Die periprotehetische Infektion ist neben der aseptischen Lockerung der Prothese und der periprotehetischen Fraktur die schwerwiegendste Komplikation nach endoprotehetischem Gelenkersatz.

Epidemiologie der Protheseninfektion

Durch Weiterentwicklung von Operationstechnik, Implantaten und Hygiene konnte die Inzidenz von periprotehetischen Infektionen bei primärem Gelenkersatz immer weiter gesenkt werden, sie liegt abhängig von der Lokalisation der Gelenkprothese bei ca. 0,5 bis 1,0 %. Unterschiedliche Faktoren beeinflussen das Auftreten eines Infektes nach Implantation einer Gelenkprothese. Risikokollektive weisen höhere Infektionsraten von bis zu 5 % auf [3]. Als Risikofaktoren wurden identifiziert: vorangegangene Operation an der Infektionsstelle, rheumatoide Arthritis, Immunsuppression, Diabetes mellitus, schlechter Ernährungszustand, Adipositas sowie hohes Alter [4].

Im Vergleich zur Primärimplantation weisen auch Revisionsoperationen deutlich höhere Infektionsraten von bis zu 15 % auf [5]. Aufgrund der sich verändernden Altersstruktur in der Allgemeinbevölkerung ist in den kommenden Jahren und Jahrzehnten bei steigender Anzahl an Primärimplantationen von Gelenkendoprothesen sowie Wechseloperationen auch mit einem Anstieg der absoluten Anzahl an Protheseninfektionen zu rechnen.

Einteilung

Die Einteilung der Protheseninfektionen kann einerseits nach Art des Infektionsweges, andererseits nach dem Zeitpunkt des Auftretens nach Implantation der Prothese erfolgen [6,7]. Der exogene Infektionsweg erfolgt perioperativ, während der Operation durch Kontamination des Implantats, der Handschuhe oder der Haut des Patienten bzw. postoperativ im Rahmen einer lokalen Infektion bedingt durch eine Wundheilungsstörung. Er ist mit ca. 57 % (am Beispiel der Hüft-TEP) etwas häufiger als die endogene Infektion über den Blutweg (ca. 43 %).

Die sog. Frühinfektion (ca. 29 % der Fälle) tritt je nach Definition innerhalb von einem Monat [8] bzw. innerhalb der ersten drei Monate [6,7] nach Implantation auf und äußert sich durch klassische Infektionssymptome wie persistierende Schmerzen, Rötung, Überwärmung, Fieber, Ödeme sowie Wundheilungsstörung. Beim verzögerten Protheseninfekt (ca. 41 %), welcher bis zwei Jahre nach Operation auftritt, liegen oft keine klassischen Infektionszeichen vor. Symptome sind nicht immer vorhanden, wenn doch, handelt es sich vor allem um

persistierende oder verstärkte Gelenkschmerzen sowie ein frühes Prothesenversagen. Daher fällt die Unterscheidung zum aseptischen Prothesenversagen oft schwer. Bei den frühen und verzögerten Protheseninfektionen handelt es sich vorwiegend um exogene Infektionen.

Späte Protheseninfektionen (ca. 30 %) treten nach mindestens zwei Jahren auf und sind meist endogen bedingt durch hämatogene Aussaat von Infektionen, insbesondere im Haut- und Weichteilgewebe, im Zahnbereich und im Harntrakt, entweder akut im Rahmen einer symptomatischen Septikämie oder subakut lokal begrenzt als Folge einer sonst asymptomatischen Bakteriämie [9,10]. Murdoch et al. konnten 2001 in einer prospektiven Studie mit 53 Patienten mit Hüft-TEP zeigen, dass eine Bakteriämie mit *S. aureus* in 37 % zu einer hämatogenen Protheseninfektion führt [11].

Bedeutung für den Patienten

Die betroffenen Patienten erfahren eine erhebliche physische und psychische Belastung, verbunden mit einem meist langen Krankenhausaufenthalt und mehrfachen operativen Eingriffen. Es drohen der Funktionsverlust des infizierten Gelenks, die Gelenkversteifung oder die Amputation. Die Infektion kann in ein septisches Multiorganversagen übergehen und dadurch vital gefährdend werden. Nicht zuletzt bedeuten schwerwiegende Komplikationen nach endoprothetischer Versorgung eine hohe sozioökonomische Belastung [12].

Pathogenese

Staphylokokken (insbesondere *Staphylococcus aureus* sowie koagulase-negative Staphylokokken wie *S. epidermidis*) sind die am häufigsten vorkommenden Erreger der Protheseninfektion, je nach Publikation wird ein Anteil von mindestens 50 bis 80 % angegeben [13-15]. Seltener kommen Infektionen durch Streptokokken (11-12 %), gramnegative Stäbchen (5-14 %), Enterokokken (3-7 %), und obligate Anaerobier (2-5 %) vor. In 5-13 % der Fälle handelt es sich um polymikrobielle Infektionen [16]. Für die frühe, exogene Form der Protheseninfektion sind meist hoch-virulente Erreger wie z. B. *S. aureus*, β -hämolisierende Streptokokken und Enterobakterien, für die verzögerte Infektion dagegen meist intraoperativ erworbene niedrig-virulente Erreger wie z. B. koagulase-negative Staphylokokken oder Propionibakterien verantwortlich. Für die hämatogen bedingte Spätinfektion kommt durch Bakteriämie u.a. aus der Hautflora, insbesondere aus dem Oropharynx sowie aus dem Urogenital- und Gastrointestinaltrakt, eine breite Palette an Erregern in Frage [3,16].

Die Bedeutung des Biofilms

Erreger von Protheseninfektionen zeichnen sich typischerweise durch die Fähigkeit aus, einen Biofilm bilden zu können [17]. Ein Biofilm überzieht Oberflächen von Fremdmaterialien wie Kathetern, Herzklappen oder orthopädischen Implantaten (siehe Abbildung 1). Hier leben Mikroorganismen dicht zusammengedrängt in einer sessilen Gemeinschaft, eingebettet in eine „schleimige“ hydrierte, extrazelluläre Polymer-Matrix.

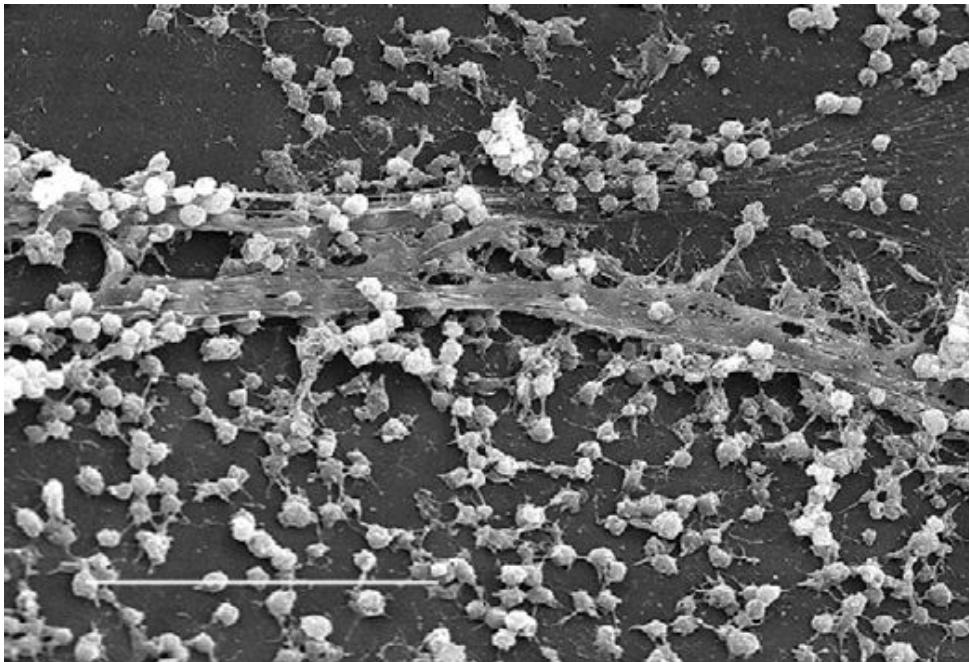


Abbildung 1: Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Biofilms aus Staphylokokken auf der Oberfläche eines Fremdkörpers. Aus Donlan, 2002 [18].

Die Biofilmbildung erfolgt in zwei Schritten. Der pathogenetisch wichtigste Schritt der Kolonisation des Fremdmaterials erfordert die Adhäsion der Bakterien an das Material selbst oder auch an das umgebende Gewebe. Durch Kontakt mit Blut oder Plasma verändern sich die Oberflächencharakteristika des Fremdmaterials. Es kommt zur Adsorption von Molekülen aus dem Körper, zunächst von Albumin; im weiteren Verlauf entsteht eine zunehmend komplexe Zusammensetzung abgelagerter Wirtsmoleküle. Dies führt zu einer proadhäsiven Oberfläche mit Präsentation von sog. Adhäsivmolekülen, wie z. B. Fibronectin, Fibrinogen, Vitronectin oder von-Willebrand-Faktor. Auch zelluläre Bestandteile, insbesondere Thrombozyten, aber auch Fibroblasten und aktivierte Endothelzellen können proadhäsive Faktoren darstellen. Bakterien, die über eine lokale Kontamination oder auf hämatogenem Weg zur Implantatoberfläche gelangen, können über spezifische Rezeptoren (sog. Adhäsine) an diese Proteinmatrix adhärieren. Vorwiegend zellwandassoziierte Proteine, aber auch

andere Komponenten der Bakterienoberfläche wie Kapselpolysaccharide oder Teichonsäuren sind als Adhäsionsfaktoren identifiziert worden. Bei einer geringen Bindungsstärke ist der Vorgang der Bakterienadhärenz noch reversibel [3].

Nach der Adhäsion kommt es zur Proliferation mit Akkumulation der Mikroorganismen auf der Oberfläche und Ausbildung eines mehrschichtigen bakteriellen „Zell-layers“, dem sog. Biofilm. Die Mechanismen der Biofilmbildung wurden insbesondere für Staphylokokken ausführlich untersucht [18,19]. So bildet *S. aureus* eine extrazelluläre Matrix aus einem Polymer von Beta-1,6-verknüpften N-Acetylglucosamin (PIA), in die die einzelnen Mikroorganismen eingebettet sind. Diese stabile Zellmatrix beeinträchtigt zum einen durch die Akkumulation einer großen Anzahl an Bakterien, zum anderen auch durch direkte antiphagozytäre Effekte die Abwehrmechanismen des Wirtes. Die Feinabstimmung der Adhäsions- und Akkumulationsprozesse der wachsenden Bakterienpopulation auf der Implantatoberfläche wird u. a. durch sog. Quorum-sensing-Mechanismen gesteuert, die die Populationsdichte wahrnehmen und darauf durch regulatorische Vorgänge reagieren können [3].

Weitere Adaptation an das Leben in Fremdmaterial-assoziierten Biofilmen zeigen Mikroorganismen durch Ausbildung atypischer Varianten, sog. „small colony variants“. Dies sind Subpopulationen von *S. aureus* und *S. epidermidis*, die sich durch reduzierte Teilungsraten, atypische Zellmorphologie, reduzierte Pigmentbildung und Stoffwechselleistungen auszeichnen. Der Phänotyp der „small colony variants“ ist mit Biofilmbildung assoziiert. Atypische Varianten wurden in einer Reihe weiterer Bakterienspezies, darunter auch *P. aeruginosa* und *E. coli*, nachgewiesen. Diese Mikroorganismen sind durch ein zwar langsames Wachstum als der Wildtyp gekennzeichnet, sind aber signifikant häufiger mit einer erhöhten Antibiotikaresistenz und Ausbildung chronischer oder rezidivierender Infektionen von Fremdmaterial assoziiert [3,20].

Die Anwesenheit von Fremdmaterial mit nachfolgender Biofilmbildung reduziert die zu einer Infektion erforderliche Inokulationsdosis deutlich, bei *S. aureus* um das über 100.000-fache, was auch durch einen zusätzlichen, durch das Fremdmaterial bedingten lokalen Granulozytendefekt ermöglicht wird [21]. Im Tiermodell konnte gezeigt werden, dass bereits 100 Kolonie-bildende Einheiten (KBE) von *S. aureus* in der Lage sind, 95 % subkutaner Implantate zu infizieren [22].

Diagnose

Insgesamt betrachtet gibt es keine allgemein gültigen Diagnosekriterien für periprotektische Infektionen [23]. Aufgrund der ungenügenden Aussagekraft einzelner zur Verfügung stehender diagnostischer Untersuchungsmöglichkeiten ist zur Diagnosestellung einer Protheseninfektion meist eine Kombination aus laborchemischer, mikrobiologischer, histopathologischer und bildgebender Diagnostik erforderlich.

A) Laborchemie

Die Leukozytenzahl und das Differenzialblutbild reichen nicht aus, um das Vorliegen einer Protheseninfektion zu bestätigen oder ausschließen zu können, da sie auch bei vorhandener Infektion normal bzw. aufgrund anderer Ursachen wie rheumatoider Arthritis, systemischer Erkrankungen oder kurz zurückliegender Operation trotz Fehlen einer Infektion erhöht sein können. Auch das CRP ist wenig aussagekräftig, da es sich erst Wochen nach einer Operation normalisiert. Insgesamt ist der Verlauf dieser Parameter in einer wiederholten Bestimmung aufschlussreicher als ein einzelner Wert. So kann ein wiederansteigendes CRP nach postoperativer Normalisierung Hinweis auf eine vorliegende Protheseninfektion sein [7]. Eine erhöhte Serumkonzentration von Interleukin-6 wird in einer neueren Studie als weiterer Laborparameter angegeben, mit einer Sensitivität von 100 % und einer Spezifität von 95 % [24].

Trampuz et al. [25] zeigten in einer prospektiven Studie, dass eine Zahl von mehr als 1700 Leukozyten pro mm^3 bzw. ein Anteil an Neutrophilen von über 65 % in der Synovialflüssigkeit eine Sensitivität zum Nachweis einer Infektion von 94 % bzw. 97 % sowie eine Spezifität von 88 % bzw. 98 % besitzt.

B) Histopathologie

Die Definition einer akuten Entzündung im periprotektischen Gewebe variiert in Studien von 1 bis 10 oder mehr Neutrophilen pro Gesichtsfeld mit 400-facher Vergrößerung. Insgesamt hat die histopathologische Untersuchung eine Sensitivität von über 80 % und eine Spezifität von über 90 %. Die Interobserver-Variabilität ist jedoch hoch. Des weiteren variiert der Grad der Entzündungsinfiltration innerhalb der gleichen als auch zwischen verschiedenen Gewebeproben des gleichen Patienten, weshalb die Proben mit den ausgeprägtesten entzündlichen Veränderungen untersucht werden sollen [7].

C) Mikrobiologie

Die Gramfärbung der Synovialflüssigkeit und des periprothetischen Gewebes hat eine hohe Spezifität (über 97 %), jedoch eine im Allgemeinen niedrige Sensitivität (unter 26 %). Kulturen von oberflächlichen Wunden oder Fisteln sollten vermieden werden, da sie aufgrund der Bakterien der Hautflora falsch-positiv sein können. Die Kultur der mittels Gelenkpunktion gewonnenen Synovialflüssigkeit kann in 45–100 % der Fälle eine Infektion nachweisen.

Die Kultur von intraoperativ entnommenem, periprotetischem Gewebe ist die verlässlichste Nachweismethode und wird daher häufig als Referenzstandard für die Diagnose einer Protheseninfektion verwendet. Sie ermöglicht die Identifikation des ursächlichen Erregers und seiner antibiotischen Suszeptibilität. Die Sensitivität beträgt 65–94 %, abhängig von der Definition einer Entzündung [26]. Zusätzlich zur Histologie sollten mindestens fünf unterschiedliche Gewebeproben aus dem periprotetischen Gewebe entnommen werden, um optimale Voraussetzungen für eine sowohl sensitive als auch spezifische mikrobiologische Analyse zu gewährleisten [3,27]. Gewebeabstriche dagegen haben eine sehr schlechte Sensitivität und sollten deshalb vermieden werden [27].

Kulturen können nach vorhergehender Antibiose falsch-negativ sein. Falls klinisch vertretbar, sollte eine vorbestehende Antibiose daher mindestens 14 Tage vor Entnahme der Gewebeproben abgesetzt werden, um auch eine Infektion mit geringer Anzahl von Mikroorganismen nachweisen zu können. Bei einer Revisionsoperation sollte auch die perioperative Antibiotikaphylaxe erst nach Entnahme der Gewebekulturen erfolgen [26]. Falls die Prothese während der Operation entfernt wird, kann auch diese zur Kultur in ein Nährmedium eingelegt werden, wobei es hier durch die Handhabung oft zu Kontaminationen kommt [7]. Da periprotetische Infektionen meist auf der Biofilmbildung beruhen, kann der Ertrag einer Implantatkultur jedoch größer sein als von Gewebeproben. Um biofilmassoziierte Bakterien vom Implantat zu lösen, wurden verschiedene Methoden evaluiert [17]. Eine Möglichkeit bietet die sog. Sonikation, ggf. mit anschließender Polymerase chain reaction (PCR). Mittels Ultraschall werden die Bakterien des Biofilms von der Prothesenoberfläche gelöst und die in Lösung gewonnenen Bakterien anschließend mittels der PCR detektiert, eine sehr sensitive Methode zum direkten Nachweis bakterieller DNS. Dabei werden Primer benutzt, um bestimmte Regionen der DNA, meist die Gene der 16 S ribosomalen RNA, welche in den meisten Bakterien – nicht jedoch in menschlichen, viralen sowie fungalen - Zellen vorkommt, zu vervielfältigen (Amplifikation) [17]. 2007 konnten Trampuz et al. in einer Studie mit 331 Patienten mit Knie- bzw. Hüft-Prothesen, von denen 79 eine

Protheseninfektion hatten, zeigen, dass die zusätzliche Kultur der durch Sonikation gewonnenen Flüssigkeit mit dem Biofilm des Implantats die Sensitivität zur Detektion einer Protheseninfektion im Vergleich zur Kultur des periprothetischen Gewebes verbessert. So war die Sensitivität der Kultur der Sonikationsflüssigkeit mit 78,5 % signifikant höher als die der Kultur des periprothetischen Gewebes mit 60,8 % ($p < 0,001$) [28]. Am deutlichsten war dies in 14 Fällen, in denen in den letzten 14 Tagen präoperativ eine antibiotische Therapie erfolgt war. Hier war die Sensitivität der Kultur der Sonikationsflüssigkeit mit 75 % deutlich höher als die des periprothetischen Gewebes mit 45 %.

Auch bei der PCR-Methode sind jedoch falsch-positive Befunde durch Kontamination möglich bzw. können die Interpretation des Ergebnisses erschweren. Nachteilig ist, dass Infektionen mit mehreren verschiedenen Bakterien nur über jeweils spezifische Ansätze differenziert werden können und keine Aussage zur Sensibilität des Mikroorganismus gegenüber antibiotischer Therapie gemacht werden kann.

D) Bildgebung

Die konventionelle Röntgenaufnahme ist nicht sensitiv oder spezifisch zur Diagnosestellung einer Protheseninfektion. Radiologische Befunde wie vermehrte Strahlentransparenz, Osteolysen und Prothesenwanderung können sowohl für eine Infektion als auch für eine aseptische Lockerung sprechen. Die zeitliche Entwicklung kann jedoch Hinweise zur Differenzierung liefern. Ein rasch progredientes Geschehen lässt im Allgemeinen auf eine vorliegende Entzündung schließen [29]. Die rasche Wanderung der Prothese (mindestens zwei mm innerhalb von sechs bis zwölf Monaten) sowie eine rasch progrediente bzw. eine irreguläre periprothetische Osteolyse sind die Hauptkriterien für periprothetische Infektionen in nativen Röntgenaufnahmen. Die Sensitivität liegt hier bei 78-89 %, die Spezifität jedoch nur bei 50-65 % [30].

Die radiologische Kontrastmitteluntersuchung des Gelenkspaltes kann die Aussagekraft bezüglich der Stabilität der Prothese weiter verbessern. Dabei sind synoviale Ausstülpungen und periprothetische Kontrastmittelanreicherungen typische Zeichen einer Protheseninfektion [31]. Zusätzlich kann während der Untersuchung Synovialflüssigkeit aspiriert und anschließend mikrobiologisch untersucht werden.

Die Ultraschalluntersuchung kann zum Nachweis von periprothetischer Flüssigkeit und zur Gelenkpunktion und -drainage genutzt werden. Insbesondere bei der Hüftprotheseninfektion ist diese Untersuchungstechnik nützlich [32].

Nuklearmedizinische Untersuchungsmethoden zeichnen sich durch eine teils hohe Sensitivität aus, weisen jedoch eine ungenügende Spezifität auf. Die Skelettszintigraphie mit ^{99m}Tc -markierten Diphosphonaten hat eine sehr hohe Sensitivität, jedoch eine niedrige Spezifität zur Diagnostik einer Gelenkprotheseninfektion. Eine fraglich infizierte Gelenkendoprothese wirft spezielle diagnostische Probleme auf. Aufgrund von erhöhten periprothetischen Knochenumbauprozessen, die bis über ein Jahr nach Prothesenimplantation andauern können, kann eine positive Szintigraphie nicht zwischen einem aseptischen und einem infektiös bedingt erhöhten Knochenstoffwechsel unterscheiden. Ein negativer Knochen-Scan jedoch schließt eine Infektion praktisch aus [33,34]. Bei positivem Knochen-Scan ist eine Unterscheidung mit der heute nur noch selten durchgeführten Leukozytenszintigraphie mittels Indium-111 markierter autologer Leukozyten möglich [35]. Aufgrund der Zeitaufwendigkeit wurde die Methode in Europa weitgehend abgelöst von der Antigranulozytenszintigraphie mittels ^{99m}Tc -markierter monoklonaler Antikörpern, welche eine Sensitivität zur Detektion einer Protheseninfektion von ca. 81 % aufweist [36]. Die Positronenemissionstomographie (PET) bietet mit Tracern wie F-18 Fluorid oder Ga-68 Citrat neue Möglichkeiten zur Diagnostik der Protheseninfektion, die weiter evaluiert werden müssen [37,38].

Die Computertomographie (CT) stellt den Gelenkspalt genauer dar als ein konventionelles Röntgenbild und wird zur Suche nach Gelenkergüssen, Fistelungen, Weichteilabszessen und Knochenerosionen verwendet. Auch sind CT-gesteuerte Punktionen und Biopsien möglich. Ein bedeutender Nachteil ist, dass die Bildqualität durch Metallartefakte eingeschränkt wird. Die Magnetresonanztomographie (MRT) kann bei Patienten mit nicht-ferromagnetischen Implantaten sicher eingesetzt werden. Sie zeichnet sich durch eine bessere anatomische Auflösung und einen höheren Weichgewebkontrast aus als die CT oder szintigraphische Methoden. Ähnlich der CT-Technik sind Bildstörungen in der Nähe metallischer Implantate nachteilig [32].

Therapie

A) Allgemeines

Die Basis einer erfolgreichen Behandlung der Protheseninfektion ist eine frühzeitige Diagnose. Der erste wichtige Bestandteil der Behandlung ist die chirurgische Therapie mit den Möglichkeiten der Revision bzw. des Prothesenwechsels, welcher in einer Sitzung erfolgen kann (einzeitig) oder zweizeitig in einer Folgeoperation, wobei die Zwischenzeit mit einem Platzhalter für den Gelenkersatz (sog. Spacer) oder einer externen Fixierung überbrückt

werden kann, um die ursprüngliche Extremitätenlänge zu erhalten. Selten muss eine Arthrodeese oder Amputation vorgenommen werden.

Der zweite wesentliche Bestandteil ist eine auf das Erregerspektrum und Antibiotogramm abgestimmte Antibiose. Da die Art sowie das Resistenzmuster der Mikroorganismen für die Wahl der optimalen Therapie entscheidend sind, ist die präoperative Gelenkpunktion mit Kultur der Synovia von zentraler Bedeutung. Eine Verzögerung der Diagnose durch eine anfangs empirische Antibiotikatherapie ohne vorausgehende gründliche Diagnostik sollte vermieden werden. Zimmerli bzw. Giulieri et al. haben 2004 einen therapeutischen Algorithmus zur Behandlung von Protheseninfektionen entwickelt [7,39], der in den Abbildungen 2 und 3 dargestellt ist.

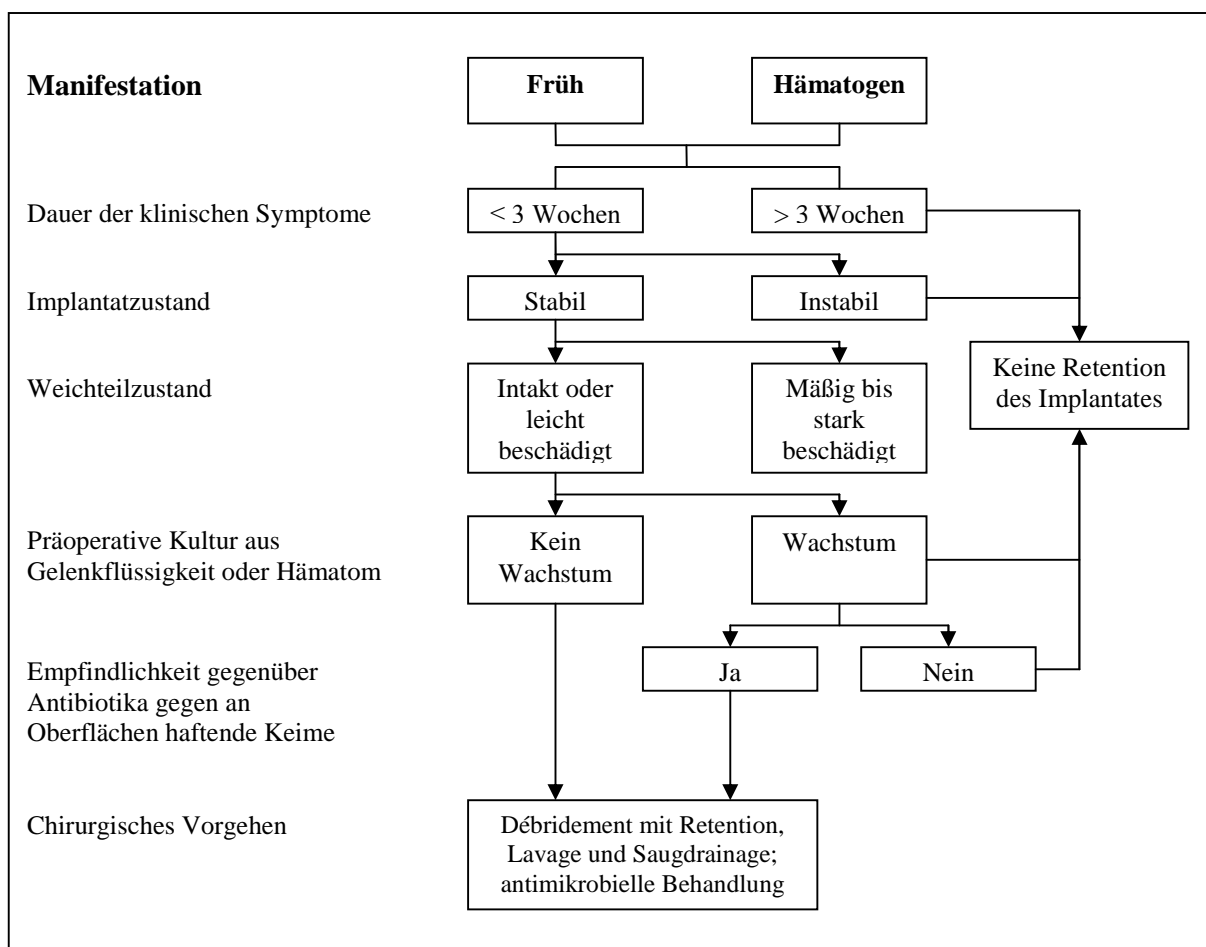


Abbildung 2: Algorithmus zur Therapie periprotetischer Infektionen. Nach Zimmerli et al., 2004 [7].

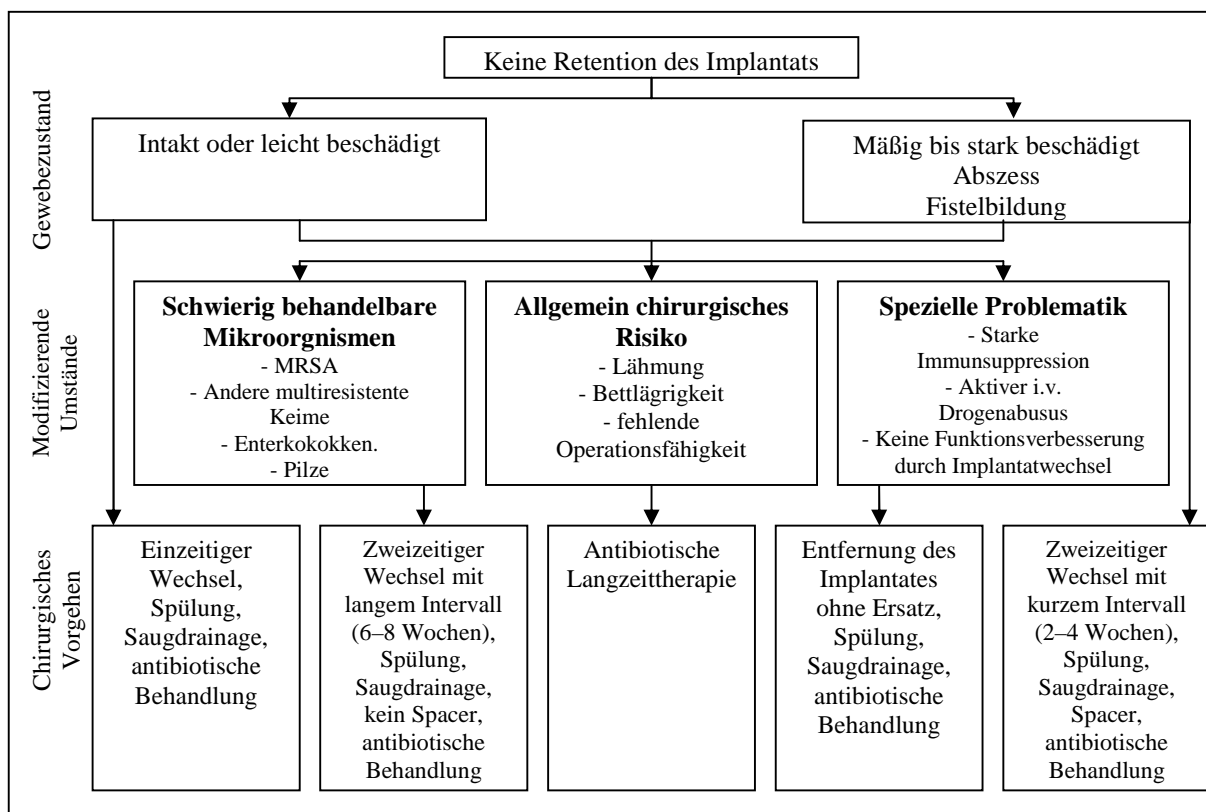


Abbildung 3: Algorithmus zur Therapie periprothetischer Infektionen, die sich nicht zur Erhaltung des Implantates eignen. Nach Zimmerli et al., 2004 [7].

Der Algorithmus von Zimmerli et al. berücksichtigt den Zeitpunkt der Infektion (Früh- bzw. Spätinfektion), den Infektionsweg (exogen bzw. hämatogen), die Dauer der klinischen Symptomatik, den Zustand der Prothese und periprothetischen Weichteile, den Zustand des Patienten (Komorbiditäten) sowie die Eigenschaften des Erregers (Resistenzen, Biologie der Bakterien im Biofilm).

Bei akuter klinischer Symptomatik (Dauer unter 3 Wochen), stabilem Implantat mit keinem oder nur geringem Weichteilschaden, negativer Kultur der präoperativen Gelenkpunktion bzw. auch bei positiver Kultur mit Nachweis der Empfindlichkeit der Bakterien gegenüber Biofilm-aktiver Antibiotika, kann die Prothese belassen werden und es wird ein chirurgisches Debridement mit Synovektomie und evtl. Anlage einer Spüldrainage durchgeführt. Anschließend folgt eine antibiotische Therapie. Eine von Trebbe 2005 veröffentlichte Studie konnte zeigen, dass dieses Vorgehen mit Belassen der Prothese mit o. g. Voraussetzungen erfolgreich sein kann. Von 24 untersuchten Patienten hatten 86 % auch nach 3 Jahren kein Implantatversagen [40].

Anderenfalls, bei verzögertem oder Spätinfekt mit einer Symptombdauer über 3 Wochen, wird die Explantation der Prothese erforderlich.

Bei fehlendem oder nur geringem Weichteildefekt wird der einzeitige Prothesenwechsel empfohlen. Bei mittelschwerem bis schwerem Weichteildefekt, z. B. in Form eines Abszesses oder einer Fistelbildung, sollte neben Debridement und Anlage einer Spüldrainage die Explantation mit zweizeitigem Prothesenwechsel in einem kurzen Zeitintervall von zwei bis vier Wochen mit der intermittierenden Anlage eines Spacers erfolgen.

Bei resistenten oder schwer behandelbaren Mikroorganismen (z. B. MRSA oder andere multiresistente Bakterien, Enterokokken, Pilze) sollte der zweizeitige Wechsel bevorzugt werden, wobei sich ein längeres Intervall von sechs bis acht Wochen bis zur Reimplantation ohne Verwendung eines Spacers empfiehlt. Allgemein hat der zweizeitige Wechsel Erfolgsraten von über 90 %, wobei der Aufwand für Patient und Operateur höher ist als bei anderen chirurgischen Behandlungsoptionen [32].

Bei erhöhtem Risiko (z. B. durch schwere Immunsuppression, aktiven i.v. Drogenmissbrauch) oder falls keine funktionelle Verbesserung nach Revisionsoperation zu erwarten ist, sollte eine ersatzlose Entfernung des Fremdmaterials und ggf. eine Gelenkarthrodese erwogen werden. Bis vor 30 Jahren war dieses Vorgehen mit Resektionsarthroplastik und anschließender intravenöser Antibiotikabehandlung die am häufigsten durchgeführte Behandlung bei periprothetischen Infektionen mit einer Heilungsrate von 82 % in einer Metaanalyse, jedoch mit schlechten funktionellen Ergebnissen, z. B. einem Wackelknie oder einem versteiften Knie bzw. einer Girdlestone-Hüfte, als Zustand nach Resektion des Hüftkopfes mit Ersatzgelenkbildung zwischen dem Rest des Oberschenkelhalses und der Beckenschaufel [41].

Unabhängig von der Art des chirurgischen Eingriffs ist in allen Fällen eine antibiotische Therapie erforderlich.

Bei Inoperabilität aufgrund von schlechtem Allgemeinzustand oder erhöhtem operativen Risiko bzw. bei Ablehnung einer Operation durch den Patienten wird eine Langzeitsuppression mit antibiotischer Therapie empfohlen, mit der Intention, die klinischen Symptome der Infektion zu kontrollieren. Eine Eradikation der Protheseninfektion kann meist nicht und soll dadurch auch nicht erreicht werden.

B) Antibiotikatherapie

Ein Antibiotikum muss für die Wirkung auf Implantat-assoziierte Infektionen folgende Anforderungen erfüllen: Es muss in den Biofilm penetrieren können und es muss aktiv sein gegen Oberflächen-adhärierende Bakterien sowie gegen nicht-wachsende stationäre Bakterien [7]. Die korrekte Behandlungsdauer wurde bisher nur in Vergleichsstudien untersucht und

bleibt aus diesem Grund empirisch. In Anwesenheit von Fremdmaterial ist ein erneutes Auftreten der Infektion nach einem Therapiezyklus häufig. Aufgrund einer kontrollierten Studie empfehlen Zimmerli et al. [42] initial eine 2- bis 4-wöchige intravenöse Antibiose, die anschließend oral weitergeführt werden kann für eine Gesamtdauer von drei Monaten bei Hüftprothesen und sechs Monaten bei Knieprothesen. Daher sollte das Antibiotikum über eine gute orale Bioverfügbarkeit verfügen. Die Rationale für die längere Behandlungsdauer bei infizierten Knieprothesen ist der oft ungünstigere Zustand des periprothetischen Weichteilgewebes.

Bei zweizeitigem Prothesenwechsel mit langem Intervall von sechs bis acht Wochen sollte die antibiotische Therapie während der Zeit ohne Prothese erfolgen. Ca. zwei Wochen vor Reimplantation sollte die Antibiose ausgesetzt werden, um bei der intraoperativen Entnahme von Gewebeproben repräsentatives Material zu erhalten. Sollte in den Gewebeproben keine Entzündung bzw. in der Kultur kein Keim nachweisbar sein, kann die antibiotische Therapie beendet werden. Anderenfalls ist eine Vervollständigung bis zur oben genannten Therapiedauer von drei bzw. sechs Monaten erforderlich. Beim einzeitigen Prothesenwechsel, beim zweizeitigen Prothesenwechsel mit kurzem Intervall sowie beim Belassen der Prothese sollte wie oben beschrieben die Antibiose initial für zwei bis vier Wochen intravenös und anschließend drei bzw. sechs Monate peroral erfolgen [7]. Die Wahl der antibiotischen Therapie muss entsprechend des Erregers und Antibiogramms erfolgen. Tabelle 1 gibt einen Überblick über die erregeradaptierte Wahl der Antibiose und Dosierung.

Mikroorganismen		Antibiotika	Dosis
Staphylococcus aureus oder Koagulase-negative Staphylokokken	Methicillin-sensibel	Flucloxacillin	2 g i. v. alle 6 h
		plus Rifampicin	450 mg alle 12 h
		Nach 2 Wochen Wechsel auf:	
		Ciprofloxacin oder	750 mg p. o. alle 12 h
		Levofloxacin oder	500 mg p. o. alle 12 h
	Methicillin-resistent	plus Rifampicin	450 mg p. o. alle 12 h
		Vancomycin	1 g i. v. alle 12 h
		plus Rifampicin	450 mg alle 12 h
		Nach 2 Wochen Wechsel auf:	
		Ciprofloxacin oder	750 mg p.o. alle 12 h
Streptococcus spp. (außer S. agalactiae)		Levofloxacin oder	500 mg p. o. alle 12 h
		plus Rifampicin	450 mg p. o. alle 12 h
		Penicillin G oder	5 Mio. IE i. v. alle 6 h
		Ceftriaxon	2 g i. v. alle 24 h
Enterococcus spp.	Penicillin-sensibel	Nach 4 Wochen Wechsel auf:	
		Amoxicillin	750–1000 mg p. o. alle 8 h
		Amoxicillin	2 g i. v. alle 4–6 h
		plus Gentamicin	5 mg/kg i. v. alle 24 h
Enterobacteriaceae (z. B. E. coli)	Chinolon-sensibel	Nach 2–4 Wochen Wechsel auf:	
		Amoxicillin	750–1000 mg p. o. alle 8 h
Nonfermenter (z. B. Pseudomonas aeruginosa)		Ciprofloxacin	750 mg p. o. alle 12 h
		Cefepim oder	2 g i. v. alle 6 h
		Ceftazidim	2 g i. v. alle 6 h
		plus Gentamicin	5 mg/kg i. v. alle 24 h
		Nach 2–4 Wochen Wechsel auf:	
		Ciprofloxacin	750 mg p. o. alle 12 h

Tabelle 1: Antibiotische Therapie von Gelenkprotheseninfektionen; aus Laffer und Ruef, 2006 [9] nach Zimmerli et al., 2004 [7].

In der Therapie von Staphylokokkeninfektionen (*S. aureus*, koagulasenegative Staphylokokken) spielt Rifampicin eine wichtige Rolle [42]. Aufgrund der raschen Resistenzentwicklung gegenüber Rifampicin bei einer Monotherapie muss immer eine Kombination mit einem weiteren Antibiotikum, entweder einem Staphylokokken-Penicillin (Flucloxacillin u.a.) oder einem Fluorochinolon (Ciprofloxacin oder Levofloxacin) erfolgen. Da viele Antibiotika, die in Knochengewebe penetrieren können, wie Oxacilline, idealerweise parenteral verabreicht werden sollten, ist die Behandlung oft mit einer langen Hospitalisierung verbunden. Die sozioökonomische Belastung ist dadurch hoch. Auch für den Patienten ist eine orale Gabe angenehmer, jedoch muss ein oral verabreichtes Antibiotikum auch genügend hohe Gewebekonzentrationen erreichen und effektiv gegen die typischen Erreger der Protheseninfektion wirken. In dieser Hinsicht scheint der Einsatz der Chinolone Erfolg versprechend. Auch neuere Chinolone wie Moxifloxacin sind aufgrund ihres verbesserten Wirkspektrums sowie ihrer guten oralen Bioverfügbarkeit, Aktivität und Sicherheit mögliche Kombinationspartner, was in dieser tierexperimentellen Studie weiter

untersucht werden soll. Bei Methicilin-resistenten Staphylokokken kommt anstelle des Penicillins das Glykopeptidantibiotikum Vancomycin zum Einsatz. Streptokokken-Infektionen werden mit Penicillin G oder einem Cephalosporin (Ceftriaxon) behandelt.

C) Lokale Therapie

Neben der systemischen Gabe von Antibiotika ist ihre lokale Applikation mittels antibiotikabeladener Träger wie Polymethylmethacrylat-Ketten oder Kollagen-Vliese sowie die Imprägnierung von Knochenzement oder Spacermaterial eine häufig gewählte Vorgehensweise zum Zeitpunkt einer Revisionsoperation [43]. Aminoglykoside und Glykopeptide gehören dabei zu den am häufigsten verwendeten Substanzen [3].

Prävention der Protheseninfektion

Im Hinblick auf die Problematik einer Implantatinfektion spielt die Prävention eine große Rolle. Bei einer elektiven Prothesenimplantation sollte der Patient im Vorfeld auf dentogingivale, urologische und dermatologische Entzündungsfoci untersucht werden, die zu einer Bakteriämie und damit zu einer hämatogenen Protheseninfektion führen könnten. Vor dem geplanten Eingriff sollten diese nach Möglichkeit saniert werden.

Der präventive Effekt einer Sanierung von intranasalen Trägern von *S. aureus* durch Mupirocin vor Durchführung eines Gelenkersatzes wurde untersucht, wobei sich eine signifikant geringere Rate von postoperativen Wundinfektionen durch *S. aureus* zeigte. Aufgrund der relativ geringen absoluten Zahlen der Studie gibt es derzeit jedoch noch keine generelle Empfehlung zur präoperativen Applikation von Mupirocin vor Gelenkersatz [3].

Intraoperativ hängt die Prävention periprothetischer Infektionen u. a. von der chirurgischen Technik und den Hygienemaßnahmen, wie der hoch effizienten Raumlufthpartikelfilterung im Operationssaal ab [44].

Seit der Einführung der systemischen perioperativen Antibiotikaphylaxe Ende der 1970er Jahre gehört der Gelenkersatz aufgrund von Ergebnissen klinischer Studien, insbesondere aufgrund des niedrigen, zur Infektion führenden Keimzahl-Inokulums sowie der katastrophalen Konsequenzen einer Infektion, zu den Eingriffen mit gesicherter Indikation für eine Antibiotikaphylaxe [45]. Diese sollte gegen die am häufigsten vorkommenden Pathogene, insbesondere Staphylokokken, Streptokokken und gramnegative Bakterien, wirksam und kostengünstig sowie auf das lokal vorliegende Resistenzprofil abgestimmt sein. Klassischerweise wird ein Cephalosporin der 1. oder 2. Generation (z. B. Cefazolin oder

Cefuroxim) verwendet. Bei Vorliegen einer Betalaktamallergie oder in Zentren mit hoher Inzidenz von betalaktamresistenten Erregern (z. B. in Form des Methicillinresistenten *S. aureus*, MRSA) kommen alternativ Glykopeptidantibiotika wie Vancomycin zum Einsatz [16]. Entscheidend ist der Zeitpunkt der Applikation: Um während der ganzen Operation antibakteriell wirksame Konzentrationen im Gewebe zu erreichen, wird die Antibiose idealerweise 30 bis 60 Minuten vor Beginn der Operation i.v. verabreicht [16,46]. Die Dauer der Antibiotikaprophylaxe sollte 24 Stunden nicht überschreiten, da ein längerer Einsatz keinen zusätzlichen präventiven Effekt zeigt, jedoch mit potenziellen Nachteilen einer Antibiotikatherapie wie Resistenzentwicklung durch Selektion, unerwünschten Wirkungen und letztlich auch Kosten verbunden ist.

Bei Patienten mit erhöhtem Risiko für eine Infektion kann die Verwendung antibiotikahaltigen Zements sinnvoll sein. In diesem Fall werden meist gegen Staphylokokken wirksame Antibiotika wie Gentamicin oder Tobramycin und/oder Vancomycin eingesetzt. Eine prophylaktische Verwendung antibiotikahaltigen Zements im Rahmen eines primären Gelenkersatzes ohne Vorliegen eines Infekthinweises wird aufgrund potenzieller Nachteile wie Resistenzentwicklung und unerwünschten Wirkungen nicht generell empfohlen [3].

Späte hämatogene Infektionen können zu jedem Zeitpunkt im Leben des Patienten auftreten, wobei das Risiko im ersten Jahr nach der Operation am höchsten ist. In dieser Zeit sollten halbsterile Eingriffe (z. B. Tonsillektomien) vermieden werden und auf eine schnelle Diagnose und Behandlung jeglicher Infektionen bei Patienten mit Gelenkendoprothesen geachtet werden. Aufgrund der oft odontogenen Pathogenese ist eine gute Zahnhygiene erforderlich. Im Unterschied zu etablierten Empfehlungen zur antimikrobiellen Prophylaxe bei Risiko für eine infektiöse Endokarditis wird eine routinemäßige Antibiotikaprophylaxe, z. B. vor zahnärztlicher Behandlung, nicht empfohlen, kann aber in speziellen Fällen bei Hochrisikopatienten mit Immunsuppression oder anderen schweren Erkrankungen erwogen werden [16].

1.2 Tiermodelle zur Protheseninfektion

Um eine optimierte Behandlung von betroffenen Patienten zu ermöglichen und Alternativpräparate angesichts der zunehmend kritischen Resistenzlage gegenüber herkömmlichen Antibiotika zu finden, sind tierexperimentelle Untersuchungen zur Wirksamkeit neu entwickelter Antibiotika bzw. unterschiedlicher Antibiotikakombinationen in geeigneten Versuchsmodellen unerlässlich. Die Komplexität der physiologischen Reaktionen und Abwehrmechanismen lässt sich in-vitro nicht simulieren.

Daher wurden schon früh tierexperimentelle Modelle der Protheseninfektion sowie auch für die Osteomyelitis und für posttraumatische Infektionen etabliert. Grundsätzlich werden dabei zwei verschiedene Modellformen unterschieden. Zum einen gibt es Modelle zur Untersuchung der Entstehung einer Protheseninfektion. Hier wird der Einfluss verschiedener Faktoren, wie z. B. Materialbeschaffenheit oder Höhe der Inokulumdosis, untersucht. Andere Modelle versuchen, eine möglichst standardisierte Infektion in allen Versuchstieren zu etablieren, um dann z. B. unterschiedliche Diagnosemethoden oder Effekte verschiedener Therapieoptionen untersuchen zu können.

Bereits 1884 entwickelte Rodet ein Tiermodell zur infektiösen Osteomyelitis, indem er Ratten *S. aureus* intravenös injizierte. Haldemann führte 1934 erstmals die direkte lokale Inokulation von Bakterien in das Knochenmark durch, die aber keine chronische Ostitis hervorrufen konnte, was Schemann erst 1941 durch direkte Applikation von Morrhuate, einem Fischölprodukt mit sklerosierenden Eigenschaften, in die Tibiaepiphyse von Kaninchen mit anschließender intravenöser Injektion von *S. aureus* gelang [47]. Ab etwa 1970 findet sich eine steigende Anzahl an Publikationen über tierexperimentelle Modelle zur Osteomyelitis und Protheseninfektion, die der rapiden Entwicklung moderner Antibiotika Rechnung trägt. Die zahlreichen Modelle unterscheiden sich unter anderem in der Art der Versuchstiere (zumeist Meerschweinchen oder Ratten, seltener Hühner, Schweine, Affen etc.), der Art der Infektionsinduktion (hämatogen über systemische Bakteriämie oder lokal über direkte Inokulation, mittels einer Keimlösung oder mittels eines am Implantat anheftenden Biofilms) sowie der Art des Implantats (meist intramedulläre Fremdkörper oder Gewebekäfige, seltener echter Gelenkersatz). Entsprechend der zwei unterschiedlichen Entstehungswege einer Protheseninfektion gab es auch in der Entwicklung von Tiermodellen verschiedene Möglichkeiten zur Infektionsinduktion. So wurde zum einen durch systemische intravenöse oder intraarterielle Gabe von Mikroorganismen eine hämatogene Protheseninfektion erzeugt, die den Mechanismus der meist hämatogen entstehenden Prothesen-Spätinfektion nachahmt.

Zur Untersuchung der lokal entstehenden endogenen Protheseninfektion wurde versucht, Bakterien lokal zu applizieren. Dabei wurde entweder eine direkte Applikation der Bakteriensuspension in das Gebiet um das Implantat oder eine Ansiedelung der Bakterien als Biofilm auf dem Implantat in-vitro vor der Implantation verwendet. Teilweise kamen zur Erzeugung der lokalen Infektion auch sklerosierende Substanzen zum Einsatz. Die Wahl des Erregers orientiert sich meist an den am häufigsten vorkommenden Erregern der periprothetischer Infektion (koagulasenegative Staphylokokken und *S. aureus*.) Die Anzahl der Bakterien, die zur sicheren Infektion benötigt wird, variiert je nach verwendetem Bakterium und Infektionsweg. Eine Infektion entwickelt sich leichter bei lokaler Inokulation als bei intravenöser. Auch die Anwesenheit von Fremdmaterial spielt dabei eine wesentliche Rolle. Im Tierversuch von Zimmerli et al. 1982 wurde zur Infektion eines Implantats nur ein niedriges Inokulum von 10^2 KBE *S. aureus* benötigt, während ohne Fremdmaterial ungleich höhere Bakterienzahlen (10^5 KBE) erforderlich waren, was den Schluss zulässt, dass ein Implantat das Immunsystem bei der Infektabwehr behindert [22]. Insgesamt kann man davon ausgehen, dass mindestens 10^3 KBE und im Durchschnitt 10^5 bis 10^8 KBE zur sicheren Infektentwicklung bei 100 % der Versuchstiere benötigt werden [48].

Auch zur Imitation des Fremdmaterials im Körper mit Bildung eines Biofilms an der Oberfläche gibt es verschiedene Ansätze. So arbeiteten Espersen et al. 1994 mit der intraperitonealen Implantation eines Katheters aus Silicon in Mäuse und anschließender Inokulation mit *S. aureus* zur Erzeugung eines intraperitonealen Abszesses [49]. Sie nutzten dieses Modell, um die Effektivität verschiedener Antibiotika (Methicillin und Gentamicin) zu testen. Ein ähnliches Modell hatten Gallimore et al. bereits 1991 entwickelt [50]. Lucet et al. bzw. Chuard et al. [51,52] nutzten in Anlehnung an Zimmerli et al. [22] ein Ratten-Tiermodell mit subkutan implantierten perforierten Gewebekäfigen aus Teflon mit je drei Deckgläsern aus Plexiglas (Polymethylmethacrylat), die nach Explantation wieder leicht von dem Material des Käfigs entfernt werden konnten. Im zeitlichen Abstand zur Implantation wurden diese mit einer definierten Anzahl an Bakterien von MRSA infiziert. Durch die subkutane Lage konnte durch Entnahme von Gewebeflüssigkeit aus dem Käfig überprüft werden, ob es zu einer Infektion gekommen war. Anschließend folgte eine antibiotische Behandlung mit verschiedenen zu testenden Antibiotika (Vancomycin, Fleroxacin, Rifampicin bzw. Kombinationen), wobei auch die Konzentration der Antibiotika im Gewebekäfig überprüft wurde. Nach der Behandlung wurde durch Entnahme der Erfolg der Behandlung anhand von Keimzahlen und Resistenzentwicklung evaluiert.

Andere Ansätze kamen der realen Situation der Protheseninfektion näher, indem sie Fremdkörper in den Knochen implantierten. So konnte die intraossäre Lage der Prothese mit den entsprechenden Umgebungsbedingungen besser simuliert werden. Zur Erzeugung der lokalen Infektion nutzten dabei einige Arbeitsgruppen zusätzliche Maßnahmen. In manchen Modellen erfolgte eine vorherige in-vitro Kontamination des Implantats mit Erzeugung eines Biofilms vor der eigentlichen Implantation in das Versuchstier [53,54]. Andere Modelle nutzten zusätzlich sklerosierende Substanzen. Mayberry-Carson et al. [55] entwickelten 1984 bereits ein Modell mit Hasen als Versuchstieren, denen sie in einer Operation einen Silicongummi-Katheter intramedullär in die Tibia implantierten und mit je ca. 10^6 Mikroorganismen von *S. aureus* infizierten. Zusätzlich wurde Morrhuate als sklerosierende Substanz mit eingebracht. In diesem Modell entwickelten 60 % der Versuchstiere eine Infektion. Auch Kaarsemaker et al. [56] nutzten 1997 für ihr Schaf-Modell einer chronischen Osteomyelitis eine sklerosierende Substanz.

Nur wenige Arbeitsgruppen entwickelten Modelle, in denen ein wirklicher Gelenkersatz durchgeführt wurde, so z. B. Southwood et al 1987 [57] mit Kaninchen, denen sie eine Hüft-Teilprothese im Sinne eines Femurkopfersatzes implantierten, was aber aufgrund der Komplexität und des hohen Aufwands nicht weiter verfolgt wurde. 1996 etablierten Belmatoug et al. ein Kaninchen-Modell eines partiellen Kniegelenkersatzes der Tibia unter Verwendung eines Silicon-Elastomer-Implantats [58]. Mithilfe dieses Modells testeten Cremieux et al. 1996 die Effektivität der Quinolone Spafloxacin und Pefloxacin zur Therapie der Protheseninfektion [59].

Die eigene Arbeitsgruppe konnte in bereits abgeschlossenen tierexperimentellen Untersuchungen [60,61] die intramedulläre Fremdkörperimplantation in minimal-invasiver Technik, die bakterielle Kontamination und die nachfolgende 14-tägige Antibiose an Ratten problemlos durchführen. Wie für aussagekräftige Modelle zu periprothetischen Infektionen gefordert wird, betrug die lokale Infektrate in diesem Tiermodell 100 %. Kein Tier verstarb an den Folgen der Operation oder an septischen Reaktionen. Somit erschien auch für die geplante Untersuchung zur Wirksamkeit der Antibiotikakombinationen bei periprothetischen Infektionen die Wahl der Ratte als Versuchstier in dem bereits bewährten tierexperimentellen Versuchsmodell gerechtfertigt. Die Verwendung einer sterilisierten Hohnadel als Fremdkörper erfolgte in Anlehnung an bereits publizierte Studien [53]. Um die Situation einer periprothetischen Infektion am Menschen zu simulieren und eine Penetration der Keime in das periprothetische Gewebe sowie eine Abkapselung in der bindegewebigen Grenzschicht

zwischen Knochen und Implantat zu ermöglichen, wurde die antibiotische Behandlung erst am siebten postoperativen Tag nach Fremdkörperimplantation und bakterieller Kontamination begonnen. Die Antibiose wurde zwei Tage vor der Explantation wieder gestoppt, um in der anschließenden Kultur eine mögliche Verfälschung des Ergebnisses durch das Antibiotikum zu verhindern und eine genügend hohe Anzahl von Keimen nachweisen zu können.

Die medikamentöse Standardtherapie der Protheseninfektion durch Methicillin-sensible Staphylokokken besteht momentan aus einer Kombination einer initialen i.v.-Therapie mit dem Staphylokokken-Penicillin Flucloxacillin und Rifampicin, gefolgt von einer Kombination eines älteren Chinolons (Ciprofloxacin oder Levofloxacin) mit Rifampicin (siehe Tabelle 1). Durch das breite antibiotische Spektrum und das im Moment günstige Resistenzprofil kommt Moxifloxacin als neueres Quinolon ebenfalls zur Therapie periprothetischer Infektionen in Betracht. In zahlreichen in-vitro und in-vivo Studien war Moxifloxacin eines der effektivsten Antibiotika im grampositiven Bereich und war um ein Vielfaches effektiver als ältere Fluorquinolone wie z. B. Ciprofloxacin [62-66]. Andere Studien zeigten, dass das Risiko einer Resistenzentwicklung während der Therapie mit Moxifloxacin wesentlich geringer ist als mit älteren Quinolonen [67]. Außerdem wurde gezeigt, dass Moxifloxacin rasch in entzündliches Gewebe inklusive Weichteilgewebe penetriert [68,69]. In der letzten Arbeit konnte die Arbeitsgruppe bereits die Überlegenheit von Moxifloxacin gegenüber Vancomycin in der Therapie der Protheseninfektion zeigen [61]. Eine Monotherapie wird jedoch aufgrund des Risikos einer Resistenzentwicklung mit konsekutivem Therapieversagen in der klinischen Routine nicht verwendet. Durch das aktuelle Versuchsvorhaben sollte daher eine viel versprechende Möglichkeit, nämlich die Kombination von Moxifloxacin mit Rifampicin im Vergleich zu der Standardantibiose Flucloxacillin und Rifampicin evaluiert werden.

Die Dosierung der Antibiose erfolgte in Anlehnung an bereits publizierte tierexperimentelle Untersuchungen:

Schaad injizierten 1994 bzw. 2006 [70,71] in einem Rattenmodell einer Fremdmaterialinfektion mit *S. aureus* mittels subkutaner Käfige Oxacillin in einer Dosierung von 200 mg/kg 2x/die intraperitoneal als Standardantibiotikum, um es mit anderen Antibiotika (Imipinem bzw. Daptomycin) zu vergleichen. Rissing et al. [72] hatten bereits 1985 Oxacillin in einer Dosis von 120 mg/kg 2x/die in ihrem Ratten-Osteomyelitis-Modell verwendet mit einer Antibiosedauer von 14 oder 28 Tagen, konnten jedoch mit dieser Dosis keine Eradikation der durch Morrhuate und *S. aureus* erzeugten Osteomyelitis erreichen. Shirliff et al. [73] wählten 2001 für ihr Ratten-Osteomyelitis-Modell zur Überprüfung der

Wirksamkeit von Levofloxacin ein Dosierungsschema von 30 mg/kg Nafcillin, ein in den USA verwendetes Oxacillin, mit einem Dosierungsintervall von sechs Stunden aufgrund der kurzen Halbwertszeit der Oxacilline. Gisby et al. [74] verwendeten für ihr Rattenmodell einer Osteomyelitis induziert durch *S. aureus* Flucloxacillin in einer Dosis von 200 mg/kg 1x/die s.c., das sie mit den Antibiotika Clindamycin und Co-Amoxiclav verglichen. Zusätzlich wurden für Flucloxacillin eigene Versuche zur Konzentrationsbestimmung durchgeführt.

Saleh-Mhgir et al. [75] verglichen 2002 die Wirksamkeit des Antibiotikums Synercid allein bzw. in Kombination mit Rifampicin im Vergleich zur Wirksamkeit von Vancomycin in einem Kaninchen-Modell der Knie-Protheseninfektion mit *S. aureus*. Rifampicin wurde in einer Dosis von 10 mg/kg 2x/die i.m. verabreicht. Dabei zeigte sich der synergistische Effekt von Rifampicin. Die Kombinationstherapie war sowohl mit Vancomycin als auch Synercid signifikant effektiver als eine Monotherapie. 1990 testeten Dworkin et al. [76] die Kombinationstherapie der Quinolone Ciprofloxacin und Pefloxacin sowie von Vancomycin mit Rifampicin in einem Rattentiermodell einer chronischen Osteomyelitis. Rifampicin wurde 1 x/die in einer Dosierung von 20 mg/kg subkutan appliziert. Dabei waren alle Kombinationstherapien mit Rifampicin am effektivsten. Bei den Monotherapien war Rifampicin signifikant besser als die anderen Antibiotika, da in dieser Studie kaum Resistenzen gegen Rifampicin auftraten. Auch O'Reilly et al. [77] verwendeten 1992 in ihrem Ratten-Osteomyelitis-Modell mit *S. aureus*, in dem sie Azithromycin und Clindamycin allein bzw. in Kombination mit Rifampicin testeten, eine Rifampicin-Dosis von 20mg/kg 1x/die subkutan.

Moxifloxacin wurde wie in der vorherigen Studie der Arbeitsgruppe dosiert.

1.3 Antibiotika

Moxifloxacin

Moxifloxacin ist ein Antibiotikum aus der Gruppe 4 der Fluorquinolone, ein 8-Methoxyfluorochinolon mit einer Cyclopropylgruppe in Position 1 (siehe Abbildung 4). Die Entwicklung der Gyrase-Hemmer begann 1962 mit der Einführung der Nalixidinsäure als Antibiotikum für Infektionen aus dem Urogenitaltrakt [78]. Aufgrund ihrer ungünstigen Pharmakokinetik, geringen Aktivität und Tendenz zur schnellen Resistenzentwicklung haben die frühen Chinolone heute keine Bedeutung mehr. Mit der Entwicklung von Norfloxacin im Jahre 1980 legten Koga et al. [79] den Grundstein für die Entwicklung der Fluorochinolone.

Seitdem wurden zahlreiche Derivate dieser Gruppe synthetisiert. Moxifloxacin wurde von der Firma Bayer entwickelt und kam 1999 unter dem Namen Avalox® auf den Markt [80].

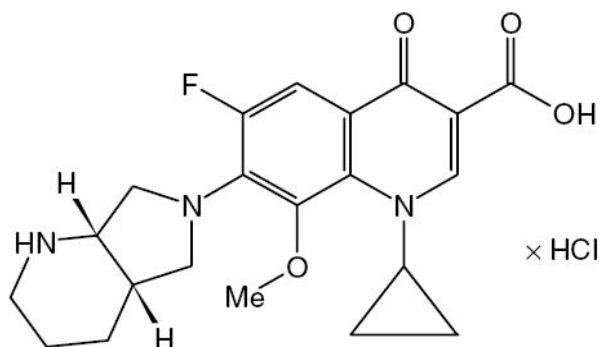


Abbildung 4: Strukturformel von Moxifloxacin; aus Zhanel et al., 2002 [81].

Die bakterizide Wirkung der Chinolone resultiert aus einer Hemmung der bakteriellen Enzyme Topoisomerase II (DNS-Gyrase) und Topoisomerase IV, die zur Nukleinsäure-Synthese benötigt werden. Moxifloxacin greift primär die Untereinheit A der Gyrase an, während Ciprofloxacin z. B. primär die Topoisomerase IV in Angriff nimmt, die in Bakterien von *S. pneumoniae* durch Enzymstrukturveränderungen bereits Resistenzen ausgebildet hat. Außerdem scheint Moxifloxacin dank seines großen Substituenten in Position C8 vor aktiven Efflux, mithilfe dessen sich die Bakterienzelle anderer Substanzen (auch Antibiotika) entledigen kann, besser geschützt [82]. Ältere Chinolone wie Ciprofloxacin und Ofloxacin zeichnen sich durch eine hohe Wirksamkeit gegenüber aeroben und fakultativ anaeroben gramnegativen Bakterien aus. Gegenüber grampositiven Bakterien sind sie weniger aktiv. Neuere Fluorchinolone wie Moxifloxacin verfügen über ein breiteres Wirkungsspektrum, zusätzlich zu der erhaltenen Wirksamkeit gegenüber gramnegativen Bakterien zeichnen sie sich durch eine deutlich verbesserte Wirksamkeit gegen grampositive Bakterien aus [83]. Empfindliche Spezies bei den aeroben grampositiven Mikroorganismen sind *S. aureus* sowie Streptokokken. Speziell Moxifloxacin wird daher momentan vorwiegend zur Therapie ambulant erworbener Pneumonie sowie zur Therapie komplizierter Haut- und Weichgewebsinfektionen eingesetzt [80]. Fluorchinolone zeigen einen prolongierten post-antibiotischen Effekt gegenüber grampositiven und gramnegativen Keimen, d. h. die antibiotische Wirkung hält auch nach Abfall der Konzentration unter die minimale Hemmkonzentration (MHK, die niedrigste in-vitro gemessene Konzentration, welche das Wachstum aller Bakterien in einem flüssigen oder festen Medium hemmt) bzw. nach Elimination des Antibiotikums noch für 1,5 bis 2,5 Stunden an. In dieser Phase zeigen Bakterien außerdem eine erhöhte Sensibilität gegenüber einer Phagozytose durch Leukozyten,

die diese dann intrazellulär abtöten, was den post-antibiotischen Effekt, vor allem im gramnegativen Bereich, noch verlängert [81]. Moxifloxacin hat bei 25 °C eine gute Wasserlöslichkeit (maximal ca. 24 mg/ml) und kann oral oder i.v. verabreicht werden. Nach intravenöser Verabreichung ist die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (AUC) mit ca. 39 mg·h/l nur geringfügig größer als nach oraler Gabe (35 mg·h/l). Dies stimmt überein mit der absoluten Bioverfügbarkeit von ca. 91 %. Die Proteinbindung beträgt ca. 40-42 % unabhängig von der Wirkstoffkonzentration. Moxifloxacin wird hauptsächlich an Serumalbumin gebunden. Es unterliegt einer Phase-II-Biotransformation und wird renal (ca. 40 %) und biliär (ca. 60 %) unverändert und in Form einer Sulfo-Verbindung und eines Glucuronids ausgeschieden. Diese einzigen für den Menschen relevanten Metaboliten sind mikrobiologisch inaktiv. Es wurden keine stoffwechselrelevanten pharmakokinetischen Interaktionen mit anderen Wirkstoffen infolge Phase-I-Biotransformation unter Beteiligung von Cytochrom P-450-Enzymen beobachtet. Moxifloxacin wird aus dem Plasma mit einer mittleren terminalen Halbwertszeit von ca. 12 Stunden eliminiert [80]. Aufgrund der günstigen Pharmakokinetik (terminale Halbwertszeit von 12 Stunden und post-antibiotischer Effekt) ist eine Einmalgabe von 400 mg/die möglich [84].

Als unerwünschte Wirkungen von Chinolonen treten gastrointestinale Symptome wie Übelkeit und Erbrechen bzw. Diarrhö und zentralnervöse Symptome wie Schwindel und Kopfschmerzen auf. Phototoxizität wird insbesondere bei Moxifloxacin selten beobachtet. Eine ausgeprägte Hepatotoxizität wie bei Trovafloxacin wurde bei Moxifloxacin noch nicht beschrieben. Es gibt seltene Berichte über eine durch Fluorochinolone verursachte Tendinitis, vor allem im Bereich der Achillessehne mit dem Risiko einer Sehnenruptur. Metallische Kationen z. B. in aluminium- oder magnesiumhaltigen Antazida oder Eisenpräparaten können mit Moxifloxacin eine Chelatbindung eingehen und seine gastrointestinale Resorption vermindern und so die orale Bioverfügbarkeit herabsetzen, weshalb ein zeitlicher Abstand von zwei Stunden zur Einnahme von Chinolonen eingehalten werden sollte [81].

Der Wirkungsmechanismus von Chinolonen, einschließlich Moxifloxacin, unterscheidet sich von dem anderer Antibiotika wie der Makrolide, Penicilline, Cephalosporine, Aminoglykoside oder Tetracycline. Erreger, die gegen diese Substanzklassen resistent sind, können daher empfindlich gegenüber Moxifloxacin und anderen Chinolonen sein. Eine Kreuzresistenz zwischen Moxifloxacin und anderen antimikrobiellen Substanzklassen ist nicht bekannt. In-vitro-Resistenz gegen Moxifloxacin entwickelt sich langsam in mehreren Mutationsschritten mit einer Häufigkeit zwischen 10^{-7} und 10^{-10} bei grampositiven Bakterien. Kreuzresistenz zwischen Moxifloxacin und anderen Fluorchinolonen wurde bei

gramnegativen Bakterien beobachtet [80]. Aufgrund der unterschiedlichen Angriffspunkte in der bakteriellen Nukleinsäuresynthese können grampositive Bakterien, die gegen andere Fluorchinolone wie z. B. Ciprofloxacin resistent sind, auch gegenüber Moxifloxacin empfindlich sein [66]. Moxifloxacin zeichnet sich gegenüber Ciprofloxacin durch eine verbesserte Wirksamkeit gegenüber intracellulär gelegenen Keimen von *S. aureus* aus [85]. Die MHK gegen den in der aktuellen tierexperimentellen Studie verwendeten Bakterienstamm von *S. aureus* (ATCC 29213) beträgt in-vitro 0,12 mg/l [86]. Im Ratten-Tiermodell erreichte Moxifloxacin 2 Stunden nach intraperitonealer Applikation von 10 mg/kg KG eine Konzentration von 2,0 mg/kg im Muskelgewebe und eine Plasma-Konzentration von 0,34 mg/l im Blutplasma [87].

Flucloxacillin

Das Antibiotikum Flucloxacillin ist ein semisynthetisches Penicillin aus der Untergruppe der Isoxazolylpenicilline (siehe Abbildung 5). Diese Gruppe zeichnet sich im Gegensatz zu anderen Beta-Laktam-Antibiotika durch eine Resistenz gegenüber der Hydrolyse durch die von Staphylokokken gebildete Beta-Laktamase (Penicillinase) aus, weshalb sie auch als Penicillinase-feste Penicilline oder Staphylokokken-Penicilline bezeichnet werden.

Bereits kurz nach der Einführung des natürlichen Benzylpenicillin (Penicillin G) konnten Penicillin-resistente Staphylokokken nachgewiesen werden. Methicillin war das erste Penicillinase-feste Penicillin aus der Gruppe der Oxacilline. Wegen der erschwerten Applizierbarkeit (nur i.v.), Toxizität und geringen in-vitro-Aktivität auf penicillinasebildende Staphylokokken wurde es sehr früh vom oral applizierbaren Oxacillin abgelöst. In Deutschland sind neben Oxacillin Dicloxacillin und Flucloxacillin für den klinischen Gebrauch erhältlich. Diese unterscheiden sich untereinander in pharmakokinetischer Hinsicht, nicht aber in ihrer antimikrobiellen Aktivität. Das relativ toxische und wenig aktive Nafcillin, das in den USA erhältlich ist, wird in West-Europa nur in der Veterinärmedizin eingesetzt [88].

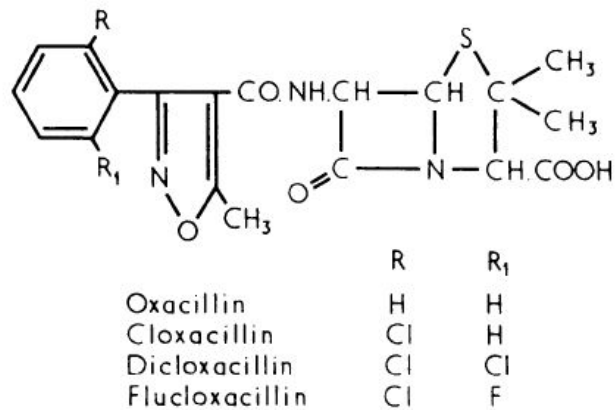


Abbildung 5: Klasse der Isoxazolympenicilline; Flucloxacillin: 3-(2-Chloro-6-Fluorophenyl)-5-Methyl-4-Isoxazolympenicillin; aus Sutherland et al., 1970 [89].

Der Angriffspunkt des Flucloxacillin ist die bakterielle Zellwandsynthese. Die Zellwand besteht aus Peptidoglykanen, welche durch Transpeptidasen quervernetzt werden. Des Weiteren liegen in der Zellwand Peptidoglykan-bindende Proteine vor. Flucloxacillin hemmt die Zellwandsynthese durch Bindung an die Transpeptidasen. Die daraus resultierende Instabilität führt über die Lyse zum Zelltod.

Das Wirkungsspektrum von Flucloxacillin ist schmal und beschränkt sich auf grampositive Bakterien (Staphylokokken, Streptokokken), insbesondere Penicillinase-bildende Staphylokokken („Staphylokokken“-Penicillin). Seine Aktivität gegen Streptokokken (*S. pneumoniae*, *S. pyogenes*) ist deutlich geringer als die von Benzylpenicillin G. Gegen Enterokokken und gramnegative Stäbchen ist es unwirksam. Zum Einsatz kommt es bei akuten und chronischen Infektionen durch Flucloxacillin-empfindliche Penicillinase-bildende Staphylokokken im Bereich der Atemwege, der Haut, Schleimhäute und des Weichteilgewebes (z. B. Furunkel, Abszesse, Pyodermie, Panaritien, Paronychien, Brustdrüsenentzündungen) sowie der Knochen und des Knochenmarkes.

Methicillin wird klassischerweise zur Überprüfung der Resistenz gegenüber allen Penicillinase-festen Penicillinen verwendet. Erworbene Resistenz im Sinne sog. Methicillin-resistenter Staphylokokken (MRSA) stellt ein zunehmendes Problem in der Antibiotikatherapie dar. Die Häufigkeit von MRSA zeigt starke regionale Schwankungen. In vielen Krankenhäusern wurden Ausbrüche von schweren Infektionen mit virulenten, multiresistenten *S. aureus*-Stämmen beobachtet, die eine Behandlung mit Vancomycin erforderten. Der Resistenzmechanismus beruht auf der Bildung von Peptidoglykan-bindenden Proteinen mit verminderter Affinität zum Methicillin und anderen Oxacillinen. Die Prävalenz der Resistenz einzelner Spezies kann örtlich und im Verlauf der Zeit variieren. Deshalb sind - insbesondere für die adäquate Behandlung schwerer Infektionen - lokale Informationen über

die Resistenzsituation erforderlich. Die Wirksamkeit von Flucloxacillin sollte vor Therapie durch den Nachweis der Empfindlichkeit gegenüber Oxacillin nachgewiesen werden. Da Flucloxacillin die Penicillinase-Bildung in Bakterien induzieren kann, ist die Indikation streng zu stellen. Flucloxacillin kann sowohl oral als auch parenteral appliziert werden. Die Bioverfügbarkeit oral applizierten Flucloxacillins beträgt etwa 50 %. Flucloxacillin wird zu 4-10 % im Organismus metabolisiert. Die Elimination erfolgt überwiegend renal (35–76 % in unveränderter Form), aber auch biliär. Die Halbwertszeit ist sehr kurz, sie liegt konzentrations- und applikationsabhängig in der Größenordnung von 45 bis 65 Minuten. Daher ist eine mehrfach tägliche Dosierung in 4- bis 6-stündigem Abstand erforderlich. Aufgrund der überwiegend renalen Ausscheidung kann die Halbwertszeit bei Niereninsuffizienz verlängert sein. Flucloxacillin ist zu etwa 92–96 % an Plasmaproteine gebunden und gut gewebeängig. Klinisch relevante Nebenwirkungen sind neben Exanthenen und gastrointestinalen Symptomen die Hepatotoxizität und Knochenmarksdepression (Neutropenie, Thrombozytopenie), die dosisabhängig sind. Speziell für Flucloxacillin sind Zytolysen und das Bild einer cholestatischen Hepatosis beschrieben. Die Häufigkeit wird mit einer Inzidenz von 1: 11.000 bis 30.000 angegeben, wobei das Risiko mit der Behandlungsdauer, Gesamtdosis sowie dem Alter des Patienten steigt. Auch deshalb ist eine strenge Indikationsstellung erforderlich [90,91]. Die MHK von Flucloxacillin für Methicillin-sensible Staphylokokken liegt bei 0,25 bis 0,5 µg/ml [89].

Rifampicin

Bei Rifampicin handelt es sich um ein semisynthetisches Antibiotikum aus der Gruppe der Rifamycine, ursprünglich Produkte des Schimmelpilzes *Streptomyces mediterranei* (heute *Nocardia mediterranea* genannt), dessen antimikrobielle Eigenschaften im Jahre 1957 entdeckt wurden. Durch chemische Modifikationen des Rifamycin B konnten die antimikrobielle Wirkung sowie die orale Bioverfügbarkeit verbessert werden und es entstand das Rifampicin, welches in den USA erstmals 1971 zur Behandlung der Tuberkulose eingesetzt wurde.

Vom chemischen Aufbau her besitzen alle Rifamycine eine Ansa-Struktur aus einem flachen aromatischen Kern mit intramolekularem Ringschluss über eine aliphatische Brücke in Form einer Art Henkel (Lat.: *ansa*), wovon sich die alternative Bezeichnung als Ansamycine ableiten lässt (siehe Abbildung 6).

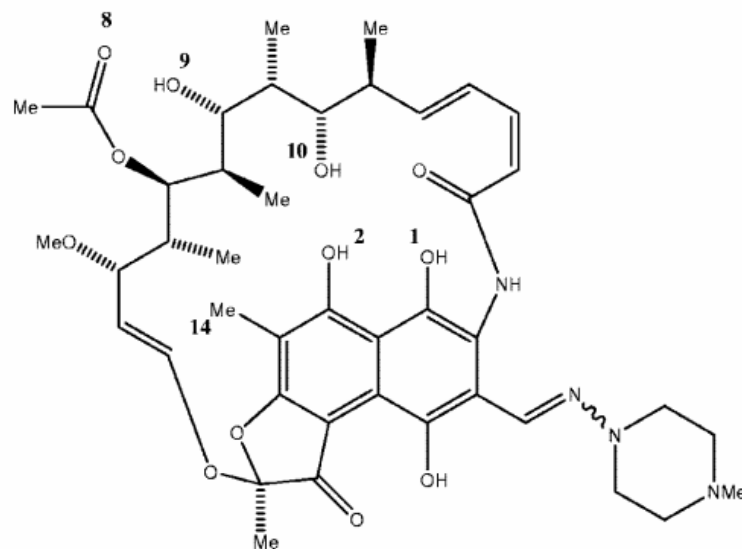


Abbildung 6: Chemische Struktur des Rifampicins (Me = Methylrest); aus O'Neill et al., 2006 [92].

Der Wirkmechanismus der Rifamycine beruht auf der Blockade der bakteriellen Proteinbiosynthese auf dem Niveau der bakteriellen DNA-abhängigen RNA-Polymerase. Durch Bindung an den DNA/RNA-Kanal der Beta-Untereinheit kommt es zu einer sterischen Blockade der Transkription, sobald das Transkriptionsprodukt eine Länge von zwei bis drei Nukleotiden erreicht hat. Dadurch wird die bakterielle RNA-Synthese gestoppt ohne wesentlichen Einfluss auf die menschliche Proteinsynthese. Folglich wirkt Rifampicin bakterizid bei proliferierenden Keimen mit geringerer Aktivität bei ruhenden Keimen [93].

Die höchste antibiotische Aktivität haben Rifamycine gegenüber Mykobakterien (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. leprae*, *M. ulcerans*), somit stellen sie eine der Schlüsselkomponenten in der Kombinationstherapie der Tuberkulose und Lepra dar. Das Wirkspektrum ist jedoch breiter und umfasst daneben auch grampositive Erreger wie Staphylokokken (*S. aureus*, koagulasenegative Staphylokokken), Streptokokken (*S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. viridans*) und Neisserien (*N. gonorrhoeae*, *N. catarrhalis*, *N. meningitidis*). Bei den Stäbchenbakterien werden *L. monocytogenes*, *L. pneumophila* und teilweise *H. influenzae* erfasst. Deshalb wird das Rifampicin auch in der Therapie der Pneumonie, zur Prophylaxe der Meningitis und zur Therapie schwerer Haut- und Weichteilinfektionen sowie Protheseninfektionen eingesetzt [94].

Die Resistenzentwicklung ist ein bekanntes Problem in der Therapie mit Antibiotika. Bei einer Monotherapie mit Rifampicin können Staphylokokken innerhalb von 24 bis 48 Stunden eine Resistenz entwickeln. Aus diesem Grund wird immer eine Kombinationstherapie mit zusätzlicher Gabe weiterer Antibiotika durchgeführt.

Die Resistenz gegenüber Rifampicin entsteht meist durch eine Punktmutation im Gen *rpoB*, welches für die durch das Antibiotikum blockierte Beta-Untereinheit der RNA-Polymerase codiert. Meist handelt es sich um sog. Missense-Mutationen, die zum Austausch einer Aminosäure im Bereich der Rifampicin-Bindungsdomäne führen. Die Häufigkeit einer solchen Mutation wird mit ca. 10^{-7} bis 10^{-8} angegeben. Die genaue Position der Mutation sowie die Art des Aminosäureaustausches beeinflussen den Grad der Resistenz in Form der MHK und der Kreuzresistenz gegenüber verschiedenen Rifamycin-Derivaten. Dabei betrifft in 96 % der Fälle von Resistenzentwicklung bei *M. tuberculosis* die Mutation einen kurzen Abschnitt des Gens, für den ein molekularer Schnelltest entwickelt werden konnte. Eine seltenere Ursache für ein Therapieversagen ist eine reduzierte Permeabilität, die den Bakterien, wie z. B. *M. avium*, trotz hochempfindlicher RNA-Polymerase eine Resistenz gegenüber Rifampicin verleiht.

Rifampicin wird nach oraler Gabe rasch und vollständig resorbiert. Nach der Standarddosis von 600 mg erreicht es innerhalb von ein bis zwei Stunden die maximale Serumkonzentration von 8 bis 20 µg/ml. Die Proteinbindung von Rifampicin beträgt ca. 80 %. Die Pharmakokinetik ist ideal für eine Einmaldosierung pro Tag [93]. Für die Therapie der periprothetischen Infektion wird jedoch eine Zweimalgabe in einer Dosis von 450 mg empfohlen [6].

Die Elimination des Rifampicin erfolgt zum größten Teil biliär, 15-50 % davon als dessen Hauptmetabolit 25-Desacetyl-Rifampicin. Die Halbwertszeit beträgt 1 bis 1,5 h. Rifamycine fördern durch Autoinduktion hepatischer Enzyme ihren eigenen Metabolismus, so dass die Halbwertszeit während einer mehrwöchigen Therapie abnimmt und die Bioverfügbarkeit von oraler Gabe im Vergleich zur intravenösen Therapie sinkt [94].

Aufgrund ihrer lipophilen Eigenschaften können Rifamycine leicht die Zellmembran passieren, so dass sie sehr wirksam gegen intrazellulär gelegene Keime sind [95]. Sie erreichen hohe Konzentrationen im Gewebe und in den Körperflüssigkeiten, was zu einer Orangefärbung von Urin, Speichel, Schweiß, Tränenflüssigkeit und Kammerwasser führt. Innerhalb einiger Stunden nach Gabe übersteigt die Gewebekonzentration die Plasmakonzentration. Nach Gabe einer therapeutischen Dosis wurden in Versuchen mit Menschen und Tieren im Knochengewebe Konzentrationen von bis zu 8,2 µg/g festgestellt. Die Konzentration ist dabei im entzündeten Knochen höher als im Gesunden und in der Spongiosa höher als in der Kompakta [93]. Die MHK von Rifampicin bei *S. aureus* liegt im Bereich von etwa 0,12–1 mg/l [96].

Die Therapie mit Rifamycinen kann zahlreiche Nebenwirkungen verursachen, die in 1,9 % der Fälle zur Beendigung der Therapie führen. Tägliche Gabe kann z. B. zu Hautreaktionen, gastrointestinalen Symptomen, Leberschäden und leichten Blutbildveränderungen führen. Bei einer intermittierenden Hochdosistherapie und bei wiederholter Gabe nach langer Medikamentenpause kann es durch Antikörperbildung zu Grippe-ähnlichen Symptomen, hämolytischer Anämie bis hin zu akutem Nierenversagen und Schock kommen. Rifamycine haben mehrere Eigenschaften, die für die Therapie von Fremdkörper-assoziierten Infektionen wie periprothetischen Infektionen erforderlich sind. Sie sind wirksam gegen das am häufigsten vorkommende Keimspektrum, dabei wirken sie auch intrazellulär, sie penetrieren den Biofilm und wirken auch gegen nicht-wachsende Organismen [93].

Bisherige tierexperimentelle Studien lassen den Schluss zu, dass Osteomyelitis und periprothetische Infektion durch eine Rifampicin enthaltende Kombinationstherapie effektiver behandelt werden können als durch eine Monotherapie mit Beta-Laktamen oder Chinolonen. Der Therapieerfolg einer Mono- bzw. Kombinationstherapie wurde in dieser Studie evaluiert.

1.4 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit

Die Kombination von Moxifloxacin und Rifampicin erschien anhand der bislang vorliegenden in-vitro und in-vivo Daten aufgrund der pharmakokinetischen und -dynamischen Eigenschaften der antibiotischen Wirkstoffe als eine vielversprechende Kombinationsantibiose bei periprothetischen Infektionen mit Methicillin-sensiblen Staphylokokken. Die wissenschaftlichen Erkenntnisse, die mit dem tierexperimentellen Versuchsvorhaben gewonnen wurden, könnten direkten Einfluss auf klinische Behandlungsregime bei Patienten mit periprothetischen Infektionen haben. Als Grundlage für die klinische Anwendung dieser Kombination sind jedoch in-vivo Ergebnisse aus kontrollierten, tierexperimentellen Untersuchungen erforderlich.

Es sollten antagonistische Reaktionen der antibiotischen Wirkstoffe ausgeschlossen und die Wirksamkeit bei Mono- und Kombinationstherapie in unterschiedlichen Gewebearten bzw. im periprothetischen Biofilm vergleichend untersucht werden.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1 Material

Versuchstiere und Tierhaltung

Das Versuchsvorhaben wurde genehmigt durch die Regierung der Oberpfalz am 30.01.2007 nach § 8 Abs. 1 des Tierschutzgesetzes (Antrag 54-2531.1-21/06).

Die veterinärmedizinische Versorgung und Kontrolluntersuchungen der Versuchstiere erfolgten durch Herrn Dr. Spruss, Leiter des Zentralen Tierlabores und Tierschutzbeauftragter der Medizinischen Fakultät der Universität Regensburg.

Für die Durchführung der Hauptversuche wurden insgesamt 66 männliche Albino-Ratten der Gattung Wistar aus der Versuchstierzucht Charles River, Sulzfeld, Deutschland verwendet, wobei letztlich 61 davon in die Auswertung der Hauptversuche eingingen. Für die Durchführung der Vorversuche zur Konzentrationsbestimmung von Flucloxacillin wurden weitere 9 Versuchstiere verwendet. Zu Beginn der Versuche waren die Tiere ca. 12 bis 14 Wochen alt und wogen zwischen 330 und 480 g. Zur Identifizierung bekam jede Ratte eine Marke mit ihrer Kennnummer ins Ohr.

Die Unterbringung erfolgte im Tierlabor H 4 der medizinischen Fakultät der Universität Regensburg unter Leitung von Tierpflegemeister Engelbert Meier. Dorthin wurden sie bereits eine Woche vor Beginn der Versuche zur Akklimatisierung an die Umgebungsbedingungen gebracht. Maximal 24 Tiere wurden gleichzeitig in Einzelkäfigen Typ Macrolon Größe III R (Bodenfläche 840 cm²) mit Einstreumaterial der Firma Rettenmeyer (3/4 Faser Einstreu) gehalten. Ihnen stand als Alleinfutter Standard-Rattenfutter der Firma SSNIFF Type 1535-000 (energiereduziert) in Form von Futterpellets und Trinkwasser ad libitum zur Verfügung. Im standardisierten Tierraum mit einer Temperatur von 21 +/- 1 °C, einer relativen Luftfeuchtigkeit von ca. 55 % (45-75 %) und einer Luftwechselrate von 15/h wurde ein künstlicher Tag-Nacht-Rhythmus mit je 12 Stunden Licht mit einer Lichtstärke von 300 lux (zwischen 7 und 19 Uhr) und 12 Stunden Dunkelheit (zwischen 19 und 7 Uhr) erzeugt.

Alle operativen Eingriffe an den Tieren wurden im Eingriffsraum des Tierlabors durchgeführt.

Implantate

Als Implantat diente eine sterile Hohlnadel aus Stahl mit einer Länge von ca. 1,5 cm und einem Durchmesser von ca. 1,0 mm. Hergestellt wurde sie aus der Hohlnadel einer Venenverweilkanüle der Marke Medi-Cath (Kendall Medizinische Erzeugnisse GmbH,

Neustadt/Donau) der Größe 18 G, die gekürzt, abgeschliffen und anschließend in einem Autoclaven bei 134 °C sterilisiert wurde (siehe Abbildung 7).

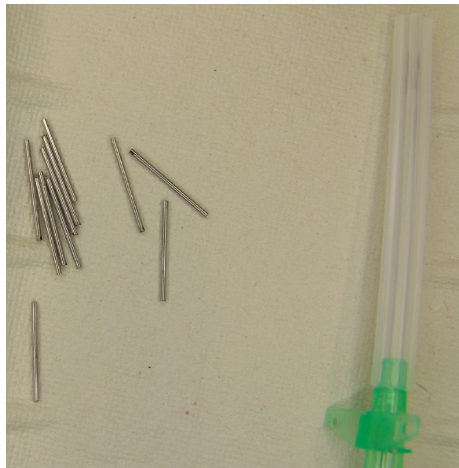


Abbildung 7: Implantate: Hohlnadeln, hergestellt aus einer Venenverweilkanüle der Größe 18G

Bakterienstamm

Die Implantate wurden infiziert mit Bakterien des Stamms *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 aus der Stammsammlung American Type Culture Collection in Manassas, USA. Hierbei handelt es sich um einen nach internationalem Standard anerkannten Test- und Referenzstamm Penicillin-resistenter und Oxacillin-sensibler Staphylokokken, die aus einer Wunde isoliert wurden.

Medikamente

Antibiotika

Flucloxacillin 1 g	DeltaSelect GmbH, Dreieich/Pfullingen
Moxifloxacin-Hydrochlorid	Bayer HealthCare AG, Wuppertal
Rifampicin-Natrium 600 mg	EREMFAT® i.v. 600 mg Fatol Arzneimittel GmbH, Schiffweiler

Anästhetika und Analgetika

Ibuprofen	Heumann Pharma GmbH, Nürnberg
Ketamin 10%	KETAVET® 100mg/ml Pharmacia GmbH, Erlangen
Pentobarbital-Natrium	NARCOREN® 160 mg/ml Merial GmbH, Hallbergmoos
Xylazin	Xylazin 2 %, CP-Pharma, Burgdorf

Chemikalien, Lösungen und Reagenzien

Aqua ad injectabilia Braun	B. Braun Melsungen AG, Melsungen
Ascorbinsäure 20%	Institut für Pharmakologie, Universität Regensburg
Desinfektionsmittel	STERILLIUM®, Bode Chemie, Hamburg
NaCl	B. Braun Melsungen AG, Melsungen

Gebrauchs- und Verbrauchsmaterialien

EDTA-Monovetten	2,7 ml Sarstedt AG & Co., Nümbrecht
Flüssiger Stickstoff	Air Liquide, Düsseldorf
Gesichtsmaske	High-Filtration Anti-Fog Face Mask Mölnlycke Health Care, Göteborg, Schweden
Handschuhe (steril)	Sempermed supreme, steril, Latex, puderfrei Semperit Technische Produkte GmbH. & Co. KG, Wien, Österreich
Handschuhe (unsteril)	Peha-soft Hartmann, Heidenheim
Handbohrer	Synthes, Umkirch
Implantate, 1,0 x 15 mm hergestellt aus Venenverweilkanüle Medi-Cath 18 G	Kendall Medizinische Erzeugnisse GmbH, Neustadt/Donau
Knochenwachs	Ethicon W30 Johnson & Johnson Intl.
Kryoröhrchen Mibi	Cryobank TM Mixed (4x16) Mast Diagnostika Laboratoriumspräparate GmbH, Reinfeld
Liston	Aesculap, Tuttlingen
Mullkompressen, 10x10cm,	10x10cm, STERIL-SET NOBA Verbandmittel Danz GmbH & Co. KG, Wetter
Nadeln (kurz)	Microlance 3 BD, Drogheda, Irland
Nadeln (lang)	Neoject 20G Dispomed Witt oHG, Gelnhausen
Nahtmaterial	Prolene 4-0 Ethicon Inc., Somerville, USA
Pipette	Research® (variabel), Bedienungsknopf gelb für Pipettenspitzen 200µl Eppendorf AG, Hamburg
Pipettenspitzen gelb 20-200 µl	Eppendorf AG, Hamburg
Proberöhrchen	Cryo-Röhrchen 2 ml Carl Roth GmbH, Karlsruhe
Röhrchen (groß)	Röhre 50 ml, steril Sarstedt AG & Co., Nümbrecht
Skalpell	Disposable Scalpel No. 15 Feather, Produkte für die Medizin, Köln
Spritzen (1ml)	BD Plastipak Becton Dickinson GmbH, Heidelberg
Spritzen (2ml)	BD Discardit II Becton Dickinson S.A., Fraga, Spanien
Sterile Operationstücher	Folio Drape 75x90 cm Hartmann, Heidenheim
Verband-Set Cham	bestehend aus 1 Schere 11 cm, 1 Adson Pinzette ½ Zähne 12 cm, 5 ES Kompressen 10x10 cm 8 fach, 1 Nadelhalter 14 cm, 1 Papp-Schale; Paul Hartmann AG, Heidenheim

Geräte

Chromatograph	HPLC System Serie LC-10, Shimadzu Scientific Instruments, Duisburg
Elektrorasierer	Moser, Wahl GmbH, Unterkirnach
Feinwaage	Sartorius Genius Serie, Sartorius AG, Göttingen
Fluoreszenzdetektor	RF-10AXL Shimadzu, Duisburg
Hochleistungsdispergierer	Ultra Turrax TP 18-10 IKA, Laufen
Mikro-Dismembrator S	Braun Biotech, Melsungen
Säule	Synergi Polar RP (Innendurchmesser 150 × 4.6 mm) Phenomenex, Aschaffenburg
Spiralplattierer, halbautomatisch	Whitley Automatic Spiral Plater DWS, Shipley, Großbritannien
Vortexer	Vortex Genie 2 Bender & Hobein, Zürich, Schweiz

Software

Skripterstellung	Microsoft Word 2002, Microsoft Excel 2002
Literaturdatenverwaltung	Reference Manager Professional Edition Version 10 Research Soft, Berkeley, USA
Erstellung der Boxplot-Graphiken	R-Statistics, www.r-project.org
Statistische Auswertung	SigmaStat 3.1, Systat Software Inc, Point Richmond,

2.2 Methoden

Studiendesign und Versuchsplan

Der Versuchsplan basiert auf einem bereits durch Vorarbeiten der Arbeitsgruppe etablierten Tiermodell zur Untersuchung der Wirksamkeit von Antibiotika zur Therapie der periprothetischen Infektion.

Zur Auswahl der Dosis von Flucloxacillin wurden Vorversuche mit zwei verschiedenen Dosierungen durchgeführt. Die Dosierung von Moxifloxacin erfolgte in Anlehnung an Vorarbeiten der Arbeitsgruppe, Rifampicin wurde in Anlehnung an bereits veröffentlichte Arbeiten dosiert (siehe Einleitung).

Weitere Vorversuche dienten der Überprüfung der Keimzahlen nach Einfrieren der Gewebeproben.

Das Studiendesign des Hauptversuchs basiert auf einem Placebo-kontrollierten Parallelversuch mit randomisierten Versuchsgruppen. Als Referenz dient eine Gruppe von 10 Kontrolltieren, die in gleicher Weise wie die Versuchstiere operiert wurden, aber anstelle der Antibiose tägliche Injektionen von Aqua erhielten.

Vorversuche zur Überprüfung der Keimzahlbestimmung bei zwischenzeitlichem Einfrieren der Gewebeproben

Da die entnommenen Gewebeproben nicht direkt weiterverarbeitet werden konnten, wurden sie in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bei -80 °C bis zur Weiterverarbeitung gelagert. Um zu überprüfen, wie die Mikroorganismen darauf reagieren, wurden Vorversuche durchgeführt, in denen die Anzahl der Keime in direkt weiterverarbeiteten Proben mit der Anzahl der Keime in zwischenzeitlich eingefrorenen Proben verglichen wurde.

Vorversuche zur Dosisfindung

Anhand von 9 Versuchstieren wurde in Vorversuchen die Plasmakonzentration von Flucloxacillin in zwei verschiedenen Dosierungen (200 und 400 mg/kg 3x/die) in Kombination mit Rifampicin (20 mg/kg 1x/die), sowie bei der höheren Dosierung auch ohne Rifampicin getestet, um anhand der Ergebnisse die Dosis für die endgültigen Versuche auswählen zu können. Tabelle 2 zeigt Vorgehen und Zeitplan der Vorversuche:

Vorversuchsgruppe	Getestete Antibiotikakonzentrationen	Tierzahl	Applikationsdauer in Tagen	Zeitpunkt der Probenentnahme nach der letzten Injektion in h
FR 200	200 mg/kg Flucloxacillin 3x/die und 20 mg/kg Rifampicin 1x/die	3	5	2
F 400	400 mg/kg Flucloxacillin 3x/die	3	5	2
FR 400	400 mg/kg Flucloxacillin 3x/die und 20 mg/kg Rifampicin 1x/die	3	5	2

Tabelle 2: Vorgehen und Zeitplan der Vorversuche zur Bestimmung der Plasma- und Gewebekonzentration von Flucloxacillin

Die Wahl der Dosis von Moxifloxacin erfolgte anhand ähnlicher, von der Arbeitsgruppe bereits zuvor durchgeführter Versuche.

Körpergewichtskontrollen

Die Kontrollen des Gewichtsverlaufs zu Beginn und am Ende der Versuchsreihe dienten dazu, die Auswirkungen der alleinigen antibiotischen Behandlung auf das Körpergewicht der Versuchstiere zu analysieren.

Applikation der Antibiotika

Flucloxacillin wurde in den zu testenden Dosierungen 200 mg/kg KG und 400 mg/kg jeweils dreimal täglich um 6:00 Uhr, 14:00 und 22:00 Uhr intraperitoneal injiziert.

Rifampicin wurde in einer Dosis von 20 mg/kg KG einmal täglich um 6:00 Uhr intraperitoneal injiziert.

Die Antibiotika waren so verdünnt, dass jeweils ca. 0,4 ml in die Bauchhöhle appliziert wurden.

Entnahme der Gewebeproben

Zwei Stunden nach der letzten Antibiotikaapplikation wurden die Tiere mittels intraperitonealer Injektion von ca. 90-120 mg/kg KG Ketamin 10 % und 6-8 mg/kg KG Xylazin 2 % narkotisiert. Nach intrakardialer Punktion wurde ca. 1 ml Blut entnommen und die Tiere im Anschluss durch eine Überdosierung von ca. 200-400 mg/kg KG Pentobarbital ins Herz getötet.

Die EDTA-Röhrchen mit den entnommenen Blutproben wurden zentrifugiert und das gewonnene Serum in Proberöhrchen überführt, die zur Gerinnungshemmung mit 10 µl einer 20 %igen Ascorbinsäuresuspension gefüllt waren, und bis zur pharmakologischen Aufarbeitung in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bei -25 ° C gelagert.

Anschließend wurden Gewebeproben aus Lunge, Leber, Muskelgewebe des linken Oberschenkels, Fettgewebe aus der linken Leiste (jeweils ca. 200-250 mg) sowie das linke Femur entnommen, in Proberöhrchen verpackt und ebenfalls in flüssigem Stickstoff tiefgefroren.

Bestimmung der Antibiotika-Konzentration in Gewebe und Plasma am Beispiel von Moxifloxacin

Die pharmakologische Auswertung der Plasma- und Gewebeproben erfolgte am Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Fakultät Chemie und Pharmazie der Universität Regensburg unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Kees. Die Quantifizierung der Antibiotika erfolgte mithilfe der Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC) und Fluoreszenz-

Detektion, in Anlehnung an eine bereits publizierte Methode [97]. Die Ergebnisdarstellung erfolgte als Gewebe-Plasma-Quotient. Das Plasma wurde mit 4 Volumenanteilen Methanol deproteinisiert. Die Gewebeproben (je 200–250 mg Lungen-, Fett- bzw. Muskelgewebe) wurden mithilfe eines Ultra Turrax TP 18–10 Hochleistungsdispergierer in 10 Volumenanteilen (w/v) eines Gemisches aus Wasser, Methanol, 70 %iger Perchlorsäure und 85 %iger Ortho-Phosphorsäure homogenisiert (Volumenverhältnis 500:500:10:1). Die in flüssigem Stickstoff tiefgefrorene Knochenprobe wurde in einem gekühlten, selbst hergestellten Mörser aus Edelstahl mit einem Stößel pulverisiert. Anschließend wurde das Knochenmehl in einem Polypropylenröhrchen verschlossen und durch 30 Minuten langes horizontales Schütteln in 8 Volumenanteilen (w/v) der Homogenisierungslösung extrahiert. Die Chromatographie erfolgte mit einem HPLC System der Serie LC-10 und dem Fluoreszenzdetektor RF-10AXL, der auf ex/em 296/504 nm eingestellt wurde. Die Trennung erfolgte mittels einer Synergi Polar RP Säule (Innendurchmesser 150 × 4.6 mm). Das Elutionsmittel bestand aus 1 l Wasser, 1,0 ml 85 %iger Ortho-Phosphorsäure, 1,0 g Tetrabutylammonium-Hydrogensulfat (eingestellt auf einen pH-Wert von 3,0 mittels 10 M NaOH) sowie 200 ml Acetonitril. Gatifloxacin wurde als internationaler Standard benutzt. Moxifloxacin bzw. Gatifloxacin eluierten nach ca. 8 min bzw. 6 min von der Säule (Flussrate 1,0 ml/min, Säulentemperatur 30 °C). Die Wiederfindung von Gatifloxacin und Moxifloxacin war 100 % aus dem Plasma und Knochen bzw. 85–90 % von Lungen-, Fett- und Muskelgewebe. Die Linearität wurde zwischen 50 und 2.000 ng/ml bestätigt. Die Präzision war besser als 10 % bis hinab zu 50 ng/ml Moxifloxacin im Plasma and 50 ng/g in Gewebe. Die Detektionsgrenze von Moxifloxacin auf der Säule (Signal zu Rausch Verhältnis: 3:1) korrespondierte zu einer Menge von 80 pg appliziertem Moxifloxacin. Aufgrund der wesentlich höheren Konzentrationen in den Proben musste keine Detektions-Untergrenze bestimmt werden [87].

Hauptversuche

Vorgehen und Zeitplan

In Tabelle 3 sind das Vorgehen und der Zeitplan des im Hauptversuch verwendeten Tiermodells zur periprotetischen Infektion dargestellt.

0.Tag	Gewichtskontrolle Operative Fremdkörperimplantation und bakterielle Kontamination mit MSSA
7.-21.Tag	Intraperitoneale Antibiose/Aqua-Injektion
8. und 15. Tag	Gewichtskontrolle
23. Tag	Gewichtskontrolle Versuchende: Einschläfern der Tiere, Präparatentnahme Verblindete quantitative Auswertung

Tabelle 3: Vorgehen und Zeitplan der Hauptversuche

A) Berechnung der Gruppengröße

Die Anzahl der Versuchstiere in den Kontroll- und Versuchsgruppen wurde in Anlehnung an bereits publizierte Infektmodelle an Nagern [77] sowie auf Grundlage der von der Arbeitsgruppe bereits durchgeführten tierexperimentellen Untersuchung gewählt [60]. Eine Standardabweichung von $\pm \log 0,70$ wurde angenommen und ein relevanter Unterschied zwischen den Versuchsgruppen wurde definiert als mindestens $\log 1,0$. Die pre hoc durchgeführte Analyse der statistischen Power (SigmaStat) ergab für eine Gruppengröße von $n = 9$ eine statistische Power von 0,8 (Typ II Fehler $\beta = 0.2$) und einen Typ I Fehler α von 0,05. Für den Fall von Komplikationen während der Operationen oder bei der Erzeugung der Infektion wurde letztendlich eine Gruppengröße von zehn bis elf Versuchstieren gewählt.

B) Gruppenbildung

Zur Untersuchung der Wirksamkeit der Mono- und Kombinationstherapien wurden die insgesamt 66 Versuchstiere der Hauptversuche in 6 Versuchsgruppen à zehn bis elf Tiere per Losverfahren randomisiert. In Tabelle 4 sind die Versuchsgruppen mit der endgültigen Anzahl der Versuchstiere dargestellt.

Es konnten maximal 24 Tiere gleichzeitig in den Versuch genommen werden. Um die Beeinflussung der Ergebnisse durch sich verändernde Umgebungs- und Haltungsbedingungen auszuschließen, setzte sich die Gruppe der gleichzeitig im Versuch befindlichen Tiere aus jeweils gleichen Anteilen der verschiedenen Versuchsgruppen zusammen. Lediglich bei den Gruppen F und FR wurde aufgrund des kürzeren Dosierungsintervalls aus organisatorischen Gründen von diesem Vorgehen abgewichen, so dass die Tiere dieser Gruppen sich zusammen mit einigen Tieren der Kontrollgruppe gleichzeitig im Versuch befanden.

Versuchsgruppe	Endgültige Gruppengröße N	Antibiose
F	10	200 mg/kg Flucloxacillin 3x/die i.p.
FR	9	200 mg/kg Flucloxacillin 3x/die i.p. und 20 mg/kg Rifampicin 1x/die i.p.
M	10	10 mg/kg Moxifloxacin 2x/die i.p.
MR	11	10 mg/kg Moxifloxacin 2x/die i.p. und 20mg/kg Rifampicin 1x/die i.p.
R	11	20 mg/kg Rifampicin 1x/die i.p.
A	10	0,4 ml Aqua 2-3x/die i.p.

Tabelle 4: Versuchsgruppen der Hauptversuche

C) Abbruchkriterien

Als Abbruchkriterien für die Versuchsdurchführung wurden festgelegt:

- Fraktur des operierten Beines mit Instabilitätszeichen
- ausgeprägte Wundheilungsstörung, auch verursacht durch Benagung durch das Tier selbst
- Systemisch-septische Reaktion mit folgenden klinischen Zeichen: Isolierung des Tieres in der Käfigecke, gestäubtes Fell, Rückgang der Körpertemperatur, Schleimhautblutung bzw. generalisierte Blutungsneigung

D) Körpergewichtskontrollen

Regelmäßige Gewichtskontrollen zu Beginn, während und am Ende der Versuche (0., 8., 15. und 23. Tag) dokumentierten die Auswirkungen der Operation und der antibiotischen Behandlung auf das Körpergewicht der Versuchstiere.

Herstellung der Bakteriensuspension

Die Keimsuspension wurde im Mikrobiologischen Institut der Universität Regensburg unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Norbert Lehn hergestellt. Dazu wurden die Keime aus der Stammsammlung auf Frischblut-Agar (Columbia Blutagar) Brutplatten aufgetragen und nach einer Bebrütungszeit von 16-18 h (bei 35 +/- 2°C) in ein Cryoröhrchen (Cryobank TM) eingerührt und bei -80°C tiefgefroren.

Für jede Versuchsreihe wurde auf diesen Ursprungspool zurückgegriffen, indem jeweils am Tag der Prüfkörperimplantation eine Bakteriensuspension mit einer Konzentration von 10⁸ KBE/ml frisch hergestellt wurde. Dazu wurde ein Kügelchen aus dem Cryoröhrchen auf eine

Blutagarplatte ausgestrichen und bei 35 +/- 2 °C bebrütet. Nach 16 bis 18 h wurden die Bakterien in 3 bis 3,5 ml einer 0,85 %igen NaCl-Lösung eingerührt und währenddessen im Densimat die Bakteriendichte gemessen bis eine Dichte von 0,50 McFarland erreicht war, welche in etwa einer Keimzahlkonzentration von 10^8 KBE/ml entspricht.

Keimzahlkontrolle der Bakteriensuspension:

Die Keimzahl in der Bakteriensuspension konnte anhand von zwei verschiedenen Verdünnungsreihen mittels des Spiralplattierers und mittels manuellem Ausspateln und Auszählen überprüft werden. Hierzu wurde mittels einer 0,85 %igen NaCl-Lösung eine 1:10.000 Verdünnung (entsprechend 10^4 KBE/ml) und eine 1:100.000 Verdünnung (entsprechend 10^3 KBE/ml) der ursprünglichen Keimsuspension hergestellt. Zwei Frischblut-Agarplatten mit je 100 µl der stärkeren Verdünnung und zwei weitere mit je 20 µl der schwächeren Verdünnung wurden 16 bis 18 Stunden bei 35 +/-2 °C bebrütet und die vorhandene Anzahl an KBE analysiert.

Intramedulläre Prüfkörperimplantation und bakterielle Kontamination

Der operative Eingriff zur Fremdkörperimplantation erfolgte in Injektionsnarkose mit Xylazin und Ketamin. Den Ratten wurden hierfür jeweils 6-8 mg/kg KG Xylazin 2 % und 90-120 mg/kg KG Ketamin 10 % intraperitoneal injiziert.

Das operative Vorgehen war für alle Versuchstiere gleich. Den narkotisierten Versuchstieren wurde in das linke Femur eine 15 mm x 1,0 mm große, sterilisierte Hohnadel intramedullär implantiert. Die Fremdkörperimplantation erfolgte nach dem Prinzip einer retrograden Femurnagelung. Nach Desinfektion des zuvor rasierten linken Hinterbeins und sterilem Abdecken des Operationsgebiets wurde lateral der Kniescheibe eine ca. 1 cm lange parapatellare Hautinzision vorgenommen und das Kniegelenk freipräpariert. Die Patella wurde nach medial disloziert, um Zugang zum distalen Femur zu erhalten. Dieses wurde interkondylar eröffnet und der Markraum mithilfe eines Handbohrers retrograd aufgebohrt. Danach konnte die Keimsuspension mit Hilfe einer Eppendorf-Pipette in den Markraum eingebracht (100 µl einer Suspension mit jeweils 10^8 KBE /ml *S. aureus*, entsprechend 10^7 KBE) und der sterile Prüfkörper intramedullär implantiert werden. Der Markraum wurde nach distal mit Knochenwachs versiegelt, das Kniegelenk mit 5 ml 0,9 %iger Kochsalzlösung gespült und die Wunde mit Einzelknopfnähten schichtgerecht verschlossen (siehe Abbildungen 8 bis 13). Die Dauer des operativen Eingriffes betrug ca. 15 Minuten.

Um die Wundschmerzen zu lindern, wurde den Ratten an den ersten drei postoperativen Tagen jeweils 120 mg/kg KG Ibuprofen ins Trinkwasser gegeben.

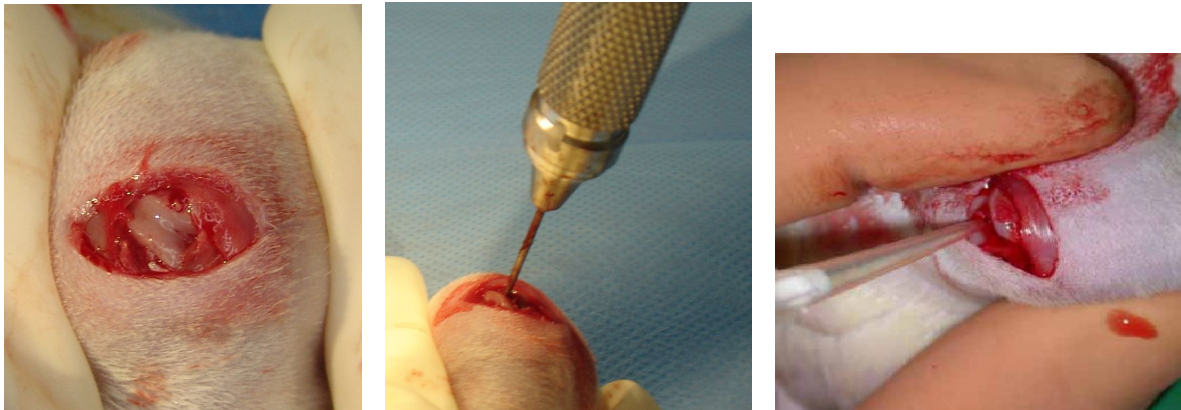


Abbildung 8 (links): Eröffnetes linkes Kniegelenk mit Blick auf die distalen Femurkondylen;

Abbildung 9 (Mitte): Retrogrades Aufbohren des distalen linken Femurs interkondylär,

Abbildung 10 (rechts): Injektion der Bakteriensuspension in den eröffneten Markraum

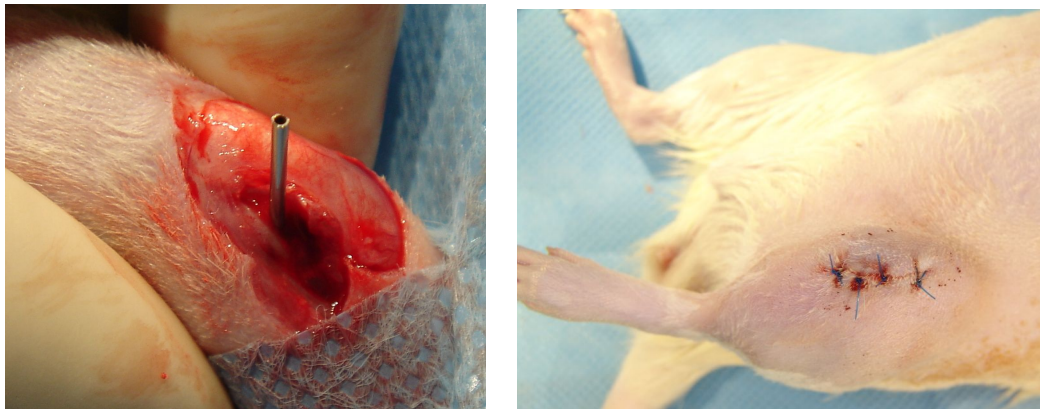


Abbildung 11 (links): Distales Femur mit interkondylär eingebrachtem Implantat;

Abbildung 12 (rechts): Postoperativer Wundverschluss



Abbildung 13: Röntgenbild des rechten und linken Femurs mit retrograd in den Markraum eingebrachtem Implantat

Applikation der Antibiotika

Um die Situation einer periprothetischen Infektion am Menschen zu simulieren und eine Penetration der Keime in das periprothetische Gewebe sowie eine Abkapselung in der bindegewebigen Grenzschicht zwischen Knochen und Implantat zu ermöglichen, wurde die antibiotische Behandlung erst am 7. postoperativen Tag nach Fremdkörperimplantation mit bakterieller Kontamination begonnen.

Die Antibiotika wurden in Anlehnung an bereits publizierte tierexperimentelle Untersuchungen bzw. anhand der pharmakologischen Vorversuche für Flucloxacillin und Moxifloxacin in folgender Dosierung intraperitoneal injiziert:

- 200 mg/kg KG Flucloxacillin dreimal täglich jeweils um 6:00 Uhr, 14:00 und 22:00 Uhr
- 10 mg/kg KG Moxifloxacin zweimal täglich jeweils um 6:00 Uhr und um 18:00 Uhr
- 20 mg/kg KG Rifampicin einmal täglich um 6:00 Uhr

Die Antibiotika waren so verdünnt, dass jeweils ca. 0,4 ml (Monotherapie) bzw. 0,8 ml (Kombinationstherapie) in die Bauchhöhle appliziert wurden. Den Tieren der Kontrollgruppe wurde zwei- bis dreimal täglich 0,4 ml Aqua injiziert.

Für die intraperitonealen Injektionen wurden die Versuchstiere einzeln von einem Helfer gefangen und sicher mit beiden Händen gehalten, um Abwehrbewegungen zu vermeiden. Die Injektionen erfolgten mit einer kurzen Nadel im 45°-Winkel etwa an der Grenze des unteren zum oberen Abdominalquadranten ca. 1 cm lateral der Medianlinie, um eine möglichst sichere intraperitoneale Applikation der Antibiotika zu gewährleisten. Nach der vierzehntägigen Antibiotikatherapie erhielten die Versuchstiere zwei Tage lang keine Injektionen, um die Konzentration der Antibiotika im Gewebe absinken zu lassen und den mikrobiologischen Nachweis einer Keimbesiedelung des Implantates und des Gewebes zu ermöglichen.

Fremdkörperexplantation

Am 23. Versuchstag wurden die Versuchstiere 48 Stunden nach der letzten Antibiotikagabe mittels intraperitonealer Injektion von ca. 90-120 ml/kg KG Ketamin 10 % und 6-8 ml/kg KG Xylazin 2 % narkotisiert und durch eine Überdosierung von Pentobarbital ins Herz eingeschläfert und anschließend gewogen. Um die toten Versuchstiere möglichst vollständig von Hautkeimen zu reinigen und mögliche Kontaminationen durch verbliebene Keime zu

verhindern, wurden sie rasiert und einige Minuten in ein Bad aus Desinfektionsmittel gelegt. Die Gewebeentnahmen fanden unter sterilen Bedingungen statt. Während des Eingriffs trug der Operateur Gesichtsmaske, Kittel und sterile Handschuhe. Für die Operationen wurde steriles Standardoperationsbesteck verwendet. Das operierte linke Hinterbein wurde präpariert und das periartikuläre Weichteilgewebe, das Femur und das Implantat mit anheftendem Biofilm entnommen, in sterile Cryo-Röhrchen verpackt und in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bei -80 °C gelagert bis zur mikrobiologischen Auswertung. Um eine septische Ausbreitung der eingebrachten Bakterien bzw. eine intraoperative Kontamination bei der Probenentnahme auszuschließen, wurde bei einem Teil der Tiere zusätzlich als Vergleich das rechte Femur entnommen und mikrobiologisch analysiert.

Mikrobiologische Analyse

Aufarbeitung der Knochen- und Weichteilproben

Die mikrobiologische Ergebnisauswertung erfolgte am Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene der Universität Regensburg unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Norbert Lehn. Die Verblindung der Proben wurde durch Nummerierung sichergestellt. Die Proben waren bereits unmittelbar nach Entnahme im Operationssaal in flüssigem Stickstoff tiefgefroren und wurden nach Ankunft im Labor bis zur Analyse weiter tiefgefroren. Zur Aufarbeitung wurden die Proben mittels eines Mikro-Dismembrators (Braun) für 2 min bei 2500/min pulverisiert, gewogen und anschließend in 4 ml steriler 0,85 %iger NaCl-Lösung resuspendiert mittels Vortexen für eine Minute bei 250/min.

Aufarbeitung des Implantats

Zur Entfernung des Biofilms wurde das Implantat zunächst in einem wasserdicht abschließbaren Röhrchen mit 4 ml 0,85 %iger NaCl-Lösung für 15 min in ein Ultraschallbad gegeben und anschließend unter Zugabe von Glasperlen mithilfe des Vortexers für 1 min bei 250/min mechanisch gereinigt.

Verfahren zur Keimzahlbestimmung in der Gewebs- und Biofilmsuspension

Die Quantifizierung der KBE in der Gewebe- und Biofilmsuspension erfolgte mittels eines halbautomatischen Spiralplattierers. Dieser saugt automatisch eine bestimmte Menge der Suspension auf, die für ein viermaliges Ausplattieren von 50 µl ausreicht. Zweimal 50 µl wurden auf je eine Mueller-Hinton-Platte ausplattiert; weitere 50 µl wurden auf eine

Blutagarplatte ausplattiert. Außerdem wurden manuell 200 µl auf eine Blutagarplatte ausgespatelt. Nach dem Ausplattieren jeder Probensuspension wurde zweimal der automatische Reinigungszyklus des Spiralplattierers durchgeführt und anschließend ein Ausplattierzyklus von zweimal je 100 µl steriler 0,85 %iger NaCl-Lösung auf je eine Mueller-Hinton-Platte durchlaufen. Anschließend konnte die aufgetragene Suspension mindestens 30 Minuten lang in die Platten, die mit dem Deckel nach oben gelagert wurden, einziehen. Alle Agarplatten wurden mit dem Boden nach oben zwei Tage lang bei 35 +/- 2 °C bebrütet. Nach 24 und 48 h Bebrütung wurde die Anzahl der KBE laut Vorschrift und mit Hilfe der zum Spiralplattierer gehörigen Zähl-Schablone ausgezählt. Dabei lag die Detektionsgrenze zum Nachweis von Bakterien bei 20 KBE, Proben mit darunterliegenden Bakterienzahlen wurden als steril (KBE = 0) gewertet.

Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration

Um während der Versuchsphase neu entstandene Antibiotikaresistenzen auszuschließen bzw. nachzuweisen, wurden bei einem Teil der kultivierten Bakterienstämme die minimalen Hemmkonzentrationen der während der Versuchsphase applizierten Antibiotika mittels E-Test bestimmt und mit den Werten zu Versuchsbeginn verglichen.

Statistische Auswertung und Dokumentation

Die statistische Auswertung der mikrobiologischen Untersuchungen erfolgte mittels des Programms SigmaStat unter Verwendung des Mann-Whitney-U-Tests für nicht-normalverteilte Werte. Für eine statistische Signifikanz wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ gefordert. Die Boxplot-Graphiken wurden mittels des Programms R Statistics erstellt.

3. ERGEBNISSE

3.1 Vorversuche zur Überprüfung der Keimzahl bei zwischenzeitlichem Einfrieren der Gewebeproben

Da die entnommenen Gewebeproben nicht direkt weiterverarbeitet werden konnten, wurden sie in flüssigem Stickstoff bei -80 °C bis zur Weiterverarbeitung eingefroren. Um zu überprüfen, wie die Mikroorganismen in den Proben darauf reagieren, wurden Vorversuche durchgeführt. Es zeigte sich, dass sich durch das Einfrieren die Keimzahl nach Kultivierung in allen Präparaten um ca. eine Log-Stufe verringerte im Vergleich zur direkten Weiterverarbeitung. Da alle Proben in gleichem Maße von dieser Erniedrigung betroffen waren, war keine Verfälschung der Ergebnisse zu erwarten.

3.2 Ergebnisse der pharmakologischen Vorversuche

Entwicklung des Körpergewichts im Versuchsverlauf

Die Tiere aller Versuchsgruppen verloren während der fünftägigen Applikation der Antibiose an Gewicht, durchschnittlich 41,2 g entsprechend 11,9 % des Ausgangsgewichts von durchschnittlich 388,8 g. Dabei konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsgruppen festgestellt werden (siehe Tabelle 5).

Vorversuchsgruppe	Mittleres Gewicht in g Tag 0	Mittleres Gewicht in g Tag 5	Gewichtsverlust in g im Vgl. zu Tag 0	Gewichtsverlust in % im Vgl. zu Tag 0
FR 200	378,9	336,4	- 42,5	- 11,2
F 400	382,2	347,3	- 34,9	- 9,1
FR 400	405,5	359,0	- 46,5	- 11,5
Gesamt	388,8 SD 12,89	347,6 SD 11,23	- 41,2	- 11,9

Tabelle 5: Entwicklung des Körpergewichts während der fünftägigen Antibiotikagabe im Rahmen der Vorversuche mit Flucloxacillin

Flucloxacillin

Die Analyse der Plasmakonzentrationen von Flucloxacillin zeigte zum Teil erhebliche Schwankungen zwischen und innerhalb der Versuchsgruppen (siehe Tabelle 6). Zusätzlich zu Flucloxacillin fiel in der HPLC ein weiterer Peak auf, der dem ringoffenen Abbauprodukt von Flucloxacillin entspricht. Insgesamt fanden sich erhebliche Mengen des Abbauprodukts. Auch dabei schwankten die Mengen interindividuell teilweise sehr stark, so dass das Verhältnis

Metabolit/Flucloxacillin zum Teil sehr hoch war. Die jeweils dritte Zeile gibt das Verhältnis in % wieder.

In der Summe lag die durchschnittliche Plasmakonzentration von Flucloxacillin mit 35,4 mg/l bei einer Dosis von 200 mg/kg KG deutlich über der MHK von 0,25 bis 0,5 mg/l. Deshalb wurde für die Hauptversuche diese Dosis gewählt.

Getestete Antibiose	1. Versuchstier	2. Versuchstier	3. Versuchstier	Durchschnitt
Flucloxacillin 200 mg/kg KG 3x/die + Rifampicin 20 mg/kg KG 1x/die				
Plasmakonzentration von Flucloxacillin in mg/l	89,0	1,2	16,1	35,4
Plasmakonzentration des Metaboliten in mg/l	47,9	4,1	10,9	20,9
Anteil des Metaboliten in %	54	339	68	153,7
Flucloxacillin 400 mg/kg KG 3x/die				
Plasmakonzentration von Flucloxacillin in mg/l	12,4	40,5	21,4	24,8
Plasmakonzentration des Metaboliten in mg/l	24,1	57,1	10,5	30,6
Anteil des Metaboliten in %	194	141	49	128
Flucloxacillin 400 mg/kg KG 3x/die + Rifampicin 20 mg/kg KG 1x/die				
Plasmakonzentration von Flucloxacillin in mg/l	109,2	231,9	174,6	171,9
Plasmakonzentration des Metaboliten in mg/l	49,8	80,4	67,2	65,8
Anteil des Metaboliten in %	46	35	38	39,7

Tabelle 6: Plasmakonzentration von Flucloxacillin und dessen Metabolit bei Dosen von 200 mg/kg KG 3x/die und 400 mg/kg KG 3x/die allein bzw. in Kombination mit Rifampicin 20 mg/kg KG 1x/die

Moxifloxacin

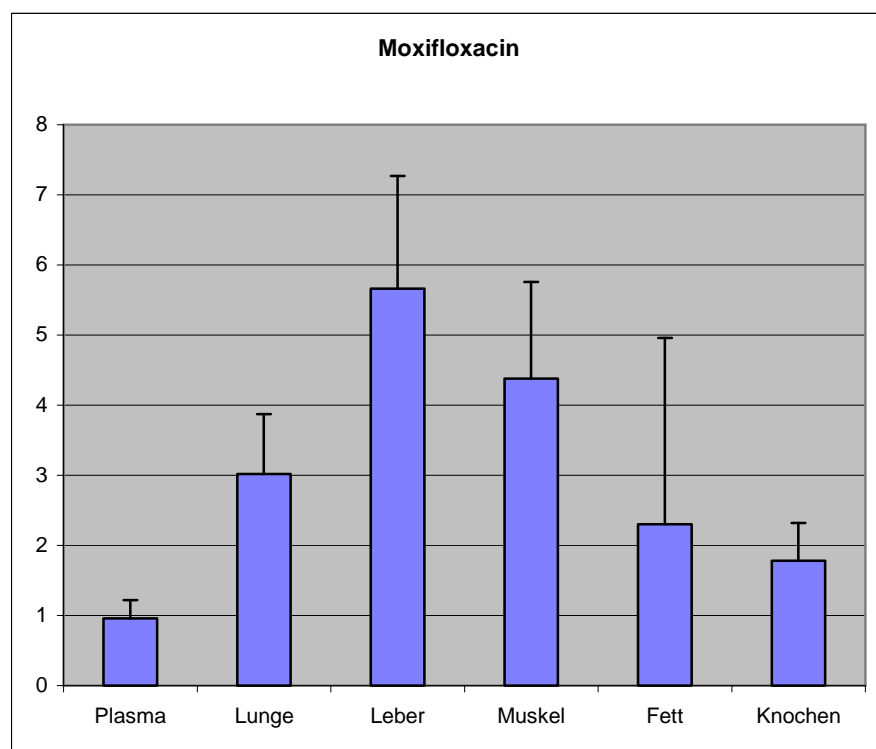
Tabelle 7 und Graphik 1 zeigen die Ergebnisse aus den Vorversuchen zur Dosisfindung von Moxifloxacin. Es wurden zwei verschiedene Dosierungen (10 mg/kg KG 2x/die bzw. 30 mg/kg KG 2x/die) getestet (vgl. Dissertation von Tobias Geith). Es sind die mittleren Konzentrationen von Moxifloxacin im Plasma und in den Gewebeproben aus Lunge,

Fettgewebe, Knochen und periartikulärem Weichteilgewebe nach 7-tägiger Behandlung mit der endgültigen Dosierung von 10 mg/kg KG Moxifloxacin 2x/die dargestellt.

Die Proben wurden zwei Stunden nach der letzten intraperitonealen Injektion entnommen, um den Maximalspiegel des Antibiotikums im Gewebe festzustellen. Alle Gewebe enthielten höhere Konzentrationen des Antibiotikums als das Plasma (0,96 mg/ml). Neben der höchsten Konzentration in der Leber war die Konzentration im Muskelgewebe mit 4,38 mg/kg sehr hoch. Obwohl die für die Therapie entscheidende ossäre Konzentration relativ gesehen am geringsten war, lag sie mit 1,78 mg/kg deutlich über der MHK von 0,12 mg/l.

Moxifloxacin Dosis 10 mg/kg KG 2x/die	Mittelwert
Plasma	0,96 mg/l
Lunge	3,02 mg/kg
Leber	5,66 mg/kg
Muskelgewebe	4,38 mg/kg
Fettgewebe	2,3 mg/kg
Knochen	1,78 mg/kg

Tabelle 7: Plasma- und Gewebekonzentrationen von Moxifloxacin 2 h nach der letzten intraperitonealen Injektion von 10 mg/kg KG 2x/die.



Graphik 1: Plasma- und Gewebekonzentration von Moxifloxacin in mg/l bzw. mg/g bei einer Dosis von 10 mg/kg KG 2x/die

3.3 Hauptversuche

Prüfkörperimplantation

Bei allen Versuchstieren konnte eine lokale Infektion des eingebrachten Prüfkörpers erzeugt werden. Ein Versuchstier (der Gruppe FR) zeigte postoperativ eine zunehmende systemisch-septische Reaktion und musste aufgrund der vorher festgelegten Abbruchkriterien am 18. postoperativen Tag aus dem Versuch genommen werden. Es wurde durch eine Überdosierung von Pentobarbital intrakardial getötet. Vier Tiere verstarben perioperativ bzw. im Versuchsverlauf (jeweils ein Tier der Gruppen A, M, F und FR). Somit gingen insgesamt 61 der 66 Versuchstiere in die endgültige Auswertung mit ein.

Bei 58 von 61 verlief die Implantation des Prüfkörpers komplikationslos, der Prüfkörper kam korrekterweise im Markraum des linken distalen Femurs zu liegen.

Bei zwei Versuchstieren stellte sich heraus, dass der Prüfkörper extramedullär ins Muskelgewebe des linken Oberschenkels eingebracht worden war. Bei einem weiteren Versuchstier war der Prüfkörper durch das Knochengewebe des linken Femurs durchgebrochen und lag teilweise extramedullär im Muskelgewebe. Bei der Fremdkörperexplantation zeigte sich, dass sich trotzdem eine Infektion des Implantates sowie des angrenzenden Femurs entwickelt hatte. Daher wurden diese drei Versuchstiere (aus der Gruppe FR) in die statistische Auswertung eingeschlossen.

Wundheilung und postoperatives Verhalten der Versuchstiere

Die Wundheilung verlief bei den meisten Versuchstieren ohne Komplikationen. Obwohl die Tiere einige der angebrachten Einzelknopfnähte durch Nagen entfernen konnten, heilten die Narben per primam. Jedoch kam es bei einigen Tieren der Kontrollgruppe, die erwartungsgemäß die schwersten Infektionen durchmachten, zur Fistelbildung mit eitriger Sekretion aus der Wunde. Bei einem Tier musste daher die Naht sekundär verschlossen werden.

Die Versuchstiere zeigten bereits am ersten postoperativen Tag ein unauffälliges Trink- und Fressverhalten, so dass das Trinkwasser mit 120 mg/kg KG Ibuprofen durch normales Leitungswasser ersetzt werden konnte.

Das operierte Hinterbein der Ratten war durch den operativen Eingriff in seiner mechanischen Tragfunktion nicht beeinträchtigt und die Artikulationspartner des eröffneten Kniegelenkes nicht verändert, so dass unmittelbar postoperativ eine Vollbelastung der operierten Extremität

und ein freies Gelenkspiel möglich waren. Trotzdem zeigten die Tiere eine Schonhaltung bzw. ein Schonhinken des linken Beines. Die Tiere konnten sich aber nach der Operation frei im Käfig bewegen.

Applikation der Antibiotika

Die mit Antibiotika behandelten Versuchstiere litten im Vergleich zu den Kontrolltieren mit zunehmender Dosis an Diarrhö. In der Rifampicin-Gruppe kam es zusätzlich zur Orangefärbung von Stuhl und Urin.

Entwicklung des Körpergewichts in Versuchsverlauf

Bei den meisten Tieren konnte während der dreiwöchigen Versuchsphase trotz des lokalen Infektes eine Gewichtszunahme gemessen werden (siehe Tabelle 8). Zu Beginn der Versuchsreihe hatten die Tiere ein mittleres Gewicht von 407,7 g (333,5 g – 480,3 g) mit einer Standardabweichung von 37,9 g. Die Tiere der Versuchsgruppen F und FR, die aus organisatorischen Gründen simultan im Versuch waren, waren im Vergleich zu den Übrigen zu Versuchsbeginn im Durchschnitt ca. eine Woche jünger und somit auch ca. 60 g leichter. Durch den operativen Stress verloren alle Tiere an Gewicht, durchschnittlich 34,3 g (entsprechend 8,4 % des Ausgangsgewichts), so dass die Tiere am 8. postoperativen Tag vor Beginn der antibiotischen Behandlung bzw. der Injektion von Aqua noch durchschnittlich 373,4 g auf die Waage brachten.

Trotz Beginn der Antibiose nahmen die Tiere wieder an Gewicht zu und die meisten Tiere hatten am Ende der Versuchsreihe ihr Ausgangsgewicht wieder erreicht bzw. überschritten, sie waren im Mittel 7,3 g (entsprechend 1,8 % des Ausgangsgewichts) schwerer als zu Versuchsbeginn. Nur in der Versuchsgruppe MR konnten die Tiere ihr Ausgangsgewicht nicht erreichen und hatten am Versuchsende ein Defizit von 10,1 g (entsprechend 2,3 %)

Die Unterschiede des Körpergewichts am Ende der Versuche waren nicht signifikant niedriger als zu Versuchsbeginn.

Versuchs- gruppe	Mittleres Gewicht in g Tag 0 (Op-Tag)	Mittleres Gewicht in g Tag 8 (1. Injektion) / Gewichtsverlust in g/% im Vgl. zu Tag 0	Mittleres Gewicht in g Tag 15 / Gewichtsverlust in g/% im Vgl. zu Tag 0	Mittleres Gewicht in g Tag 23 (Entnahme) / Gewichtsverlust in g/% im Vgl. zu Tag 0
F	356,0	329,9 -26,1/7,3%	338,6 -17,4/4,9%	376,0 +20/5,6%
FR	364,7	348,0 -16,7/2/4,6%	342,0 -22,7/6,2%	377,5 +12,8/3,5%
M	425,3	379,7 -45,6/10,7%	397,0 -28,3/6,7%	427,5 + 2,2/0,5%
MR	437,4	395,1 -42,3/9,7%	402,1 -35,3/8,1%	427,3 -10,1/2,3%
R	431,8	389,0 -42,8/9,9%	395,9 -35,9/8,3%	431,2 -0,6/0,1%
K	421,4	392,1 -29,3/6,9%	407,8 -11,5/2,7%	439,9 +20,6/4,9%
Gesamt	407,7	373,4 -34,3/8,4%	381,8 -25,9/6,4%	415 +7,3/1,8%

Tabelle 8: Entwicklung des Körpergewichts während der dreiwöchigen Versuchsphase im Rahmen der Hauptversuche

Makroskopische Befunde bei der Fremdkörperexplantation

Bei der Fremdkörperexplantation zeigten alle infizierten Kniegelenke makroskopisch eindeutige Infektzeichen wie Empyem der Gelenkhöhle, eitrige Arthritis mit periartikulären Knochendestruktionen sowie Osteomyelitis mit periprotetischer Eiteransammlung. Dabei waren die Knochendefekte und die Menge an Eiter bei den Kontrolltieren am ausgeprägtesten (siehe Abbildung 14).



Abbildung 14: Linkes Femur eines Versuchstieres. Makroskopische Befunde der Osteomyelitis mit Eiteransammlung und Knochendestruktion im Bereich des distalen Femurs.

Radiologische Befunde

Röntgenbilder zur Überprüfung der Operationstechnik bestätigten die korrekte Lage des retrograd eingebrachten Implantats im distalen Markraum des linken Femurs. Die Röntgenbilder zur Überprüfung der Infektionsinduktion zeigen im linken Hinterbein eindeutige Befunde der periprothetischen Infektion mit Osteomyelitis des linken distalen Femurs und der linken proximalen Tibia sowie Arthritis des linken Kniegelenks (siehe Abbildung 15).



Abbildung 15: Röntgenbild eines Versuchstieres nach Fremdkörperimplantation: Radiologische Befunde der Osteomyelitis des linken distalen Femurs (mit Implantat) und der linken proximalen Tibia sowie Arthritis des linken Kniegelenks. Rechtes Hinterbein unauffällig.

Mikrobiologische Befunde

Die Proben vom rechten Hinterbein (Knochen, Muskel, periartikuläres Weichteilgewebe) waren bei allen Tieren, die in die endgültige Auswertung gingen, steril, d. h. die induzierte Infektion blieb lokal begrenzt und es kam zu keiner systemisch-septischen Reaktion.

In der Kontrollgruppe konnten von nahezu allen Gewebeproben des linken Hinterbeins und vom Implantat Bakterien kultiviert werden mit Ausnahme einer periartikulären Gewebeprobe. Bei den Gruppen MR und FR dagegen waren in den Gewebeproben vom linken Femur außer bei je zwei Versuchstieren, in den Gewebeproben des periartikulären Weichteilgewebes außer bei vier bzw. einem Versuchstier sowie am Implantat bis auf eine Ausnahme in der Gruppe FR keine Keime nachweisbar.

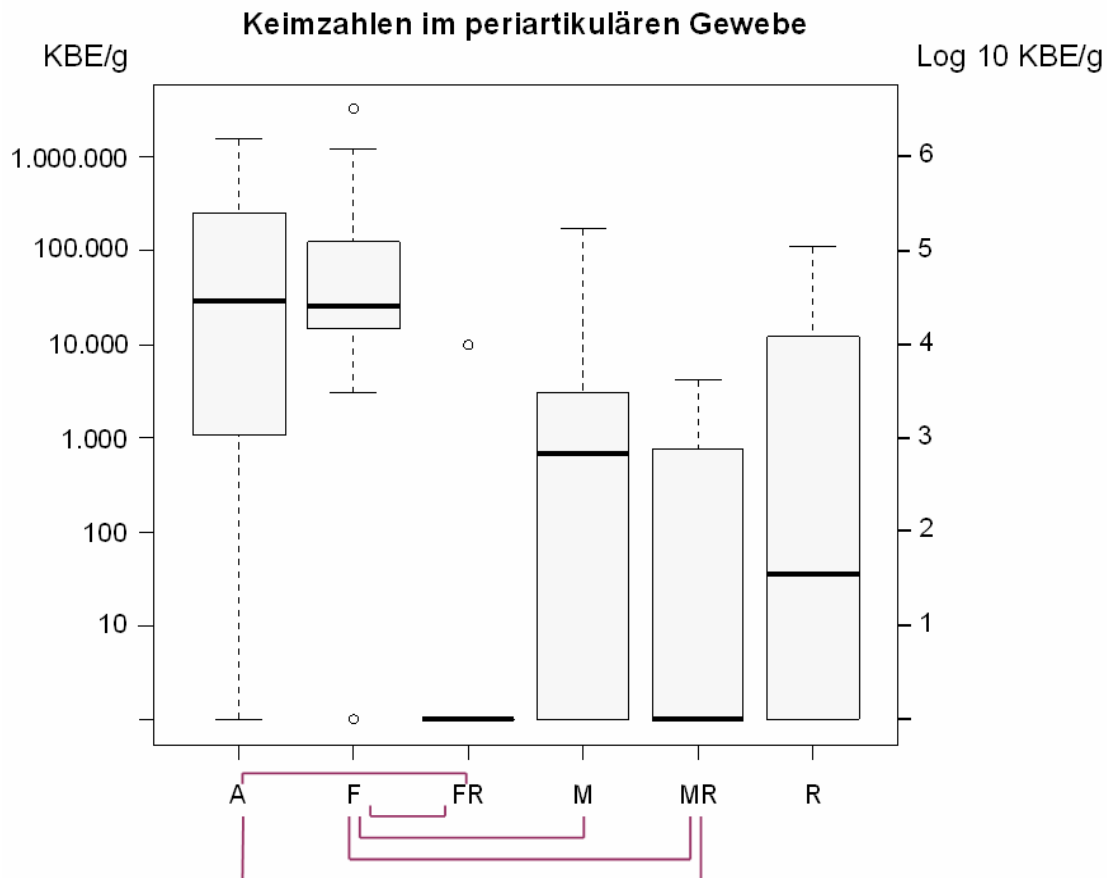
A) Periartikuläres Weichteilgewebe

In Graphik 2 sind die Keimzahlen von *S. aureus* im periartikulären Weichteilgewebe des linken Kniegelenks als Box-Plot dargestellt. Tabelle 9 zeigt die zugehörigen Mittelwerte und die Standardabweichung sowie den Median in logarithmierter und nicht-logarithmierter Form. Tabelle 10 zeigt die Ergebnisse der statistischen Auswertung mittels des Mann-Whitney-U-Tests. *Die Zahlen-Angaben beziehen sich im Folgenden auf den in der Boxplot-Graphik dargestellten Median der logarithmierten Werte.*

Die höchsten Keimzahlen fanden sich in der Kontrollgruppe A mit 4,47 log 10 KBE/g und in der Gruppe mit Flucloxacillin als Monotherapie (F) mit 4,40 log₁₀ KBE *S. aureus*/g periartikulärem Gewebe. Nicht signifikant weniger Bakterien fanden sich in den Gruppen mit Rifampicin als Monotherapie (1,56 log₁₀ KBE/g) bzw. Moxifloxacin als Monotherapie (2,83 log₁₀ KBE/g).

In der Gruppe FR mit der Kombinationstherapie Flucloxacillin und Rifampicin konnten periartikulär außer aus einer Probe keine Bakterien angezüchtet werden, signifikante Unterschiede bestehen sowohl zur Gruppe F mit $p = 0,002$ als auch zur Kontrollgruppe A mit $p = 0,003$.

Die Kombinationstherapie Moxifloxacin und Rifampicin tötete ebenfalls signifikant mehr Bakterien ab im Vergleich zur Gruppe F mit $p = 0,002$ und zur Kontrollgruppe mit $p = 0,006$. Signifikante Unterschiede zeigen sich auch im Vergleich der Monotherapie von Flucloxacillin (4,40 log 10 KBE/g) und Moxifloxacin (2,83 log 10 KBE/g) mit $p = 0,037$.



Graphik 2: Keimzahlen im periartikulären Weichteilgewebe in KBE/g bzw. Log10 KBE/g nach 14-tägiger Monotherapie mit Moxifloxacin (M), Flucloxacillin (F) und Rifampicin (R) sowie jeweils in Kombination mit Rifampicin (MR, FR) im Vergleich zur mit Aqua behandelten Kontrollgruppe (A). Zur besseren graphischen Darstellung wurden trotz logarithmischer Skala die Werte mit nicht-nachweisbaren Keimen bei 0 belassen. Die Grenzen der Box entsprechen der 25. und 75. Perzentile, die Whisker darüber und darunter entsprechen der 5. und 95. Perzentile. Klammern: signifikante Verringerung der Keimzahl ($p < 0,05$).

Versuchsgruppe	Mittelwert	Standardabweichung	Median	Median in Log10
A	317.303,33	536.739,85	29.218,41	4,47
F	469.699,58	1.038.758,3	26.100,3	4,40
FR	1.086,42	3.259,26	0	0
M	23.299,13	56.239,62	674,84	2,83
MR	684,86	1.315,23	0	0
R	18.928,02	38.704,03	647,88	1,56

Tabelle 9: Mittelwerte, Standardabweichung und Median der Keimzahlen in KBE/g periartikulärem Weichteilgewebe

	F	FR	M	MR	R
A	1,0	0,003	0,077	0,006	0,092
F		0,002	0,037	0,002	0,068
FR			0,130	0,386	0,190
M				0,390	0,962
MR					0,448

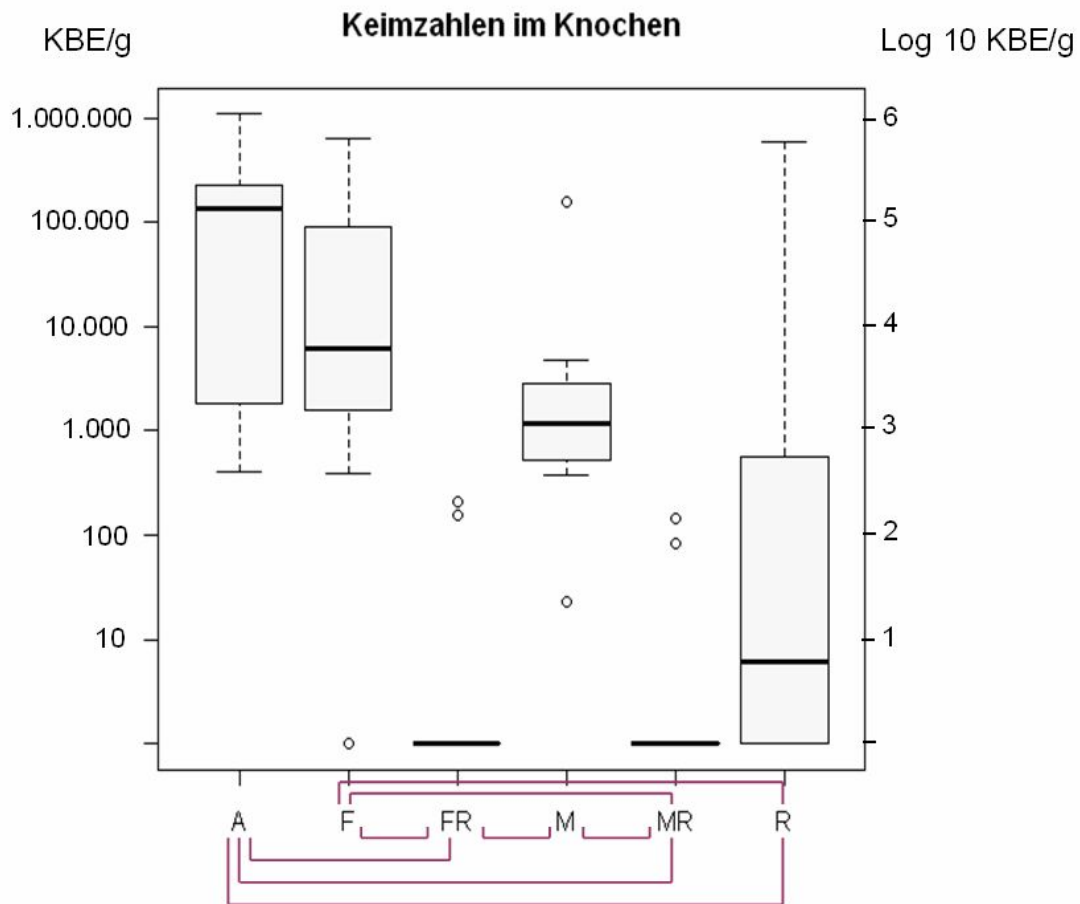
Tabelle 10: Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests. P-Werte im Vergleich (periartikuläres Weichteilgewebe). Fettgedruckt: signifikante Ergebnisse

B) Femur

Die Keimzahlen von *S. aureus* im Knochengewebe des linken Femurs sind in Graphik 3 als Box-Plot dargestellt. Tabelle 11 zeigt Mittelwert, Median und die Standardabweichung. Tabelle 12 zeigt die Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests.

Dabei waren die Keimzahlen zwischen den Versuchsgruppen ähnlich verteilt wie im periartikulären Gewebe. Die höchsten Bakterienzahlen fanden sich in der Kontrollgruppe A mit 5,14 log₁₀ KBE/g. Auch in den Versuchsgruppen mit antibiotischer Monotherapie waren Staphylokokken nachweisbar (Gruppe F: 3,78 log₁₀ KBE/g; Gruppe M: 3,07 log₁₀ KBE/g; Gruppe R: 0,79 log₁₀ KBE/g).

Die Knochenproben von den Versuchsgruppen mit Kombinationstherapie (FR und MR) waren bis auf jeweils zwei Ausreißer steril, jeweils mit signifikanten Unterschieden zur Kontrollgruppe und zu den Gruppen F und M, jedoch nicht zur Gruppe R. In der Gruppe mit Rifampicin als Monotherapie waren signifikant weniger Bakterien nachweisbar als in der Kontrollgruppe und in der Gruppe F. Die Unterschiede zur Gruppe M waren nicht signifikant (p-Werte siehe Tabelle 12).



Graphik 3: Keimzahlen im Knochen in KBE/g bzw. Log10 KBE/g nach 14-tägiger Monotherapie mit Moxifloxacin (M), Flucloxacillin (F) und Rifampicin (R) sowie jeweils in Kombination mit Rifampicin (MR, FR) im Vergleich zur mit Aqua behandelten Kontrollgruppe (A). Zur besseren graphischen Darstellung wurden trotz logarithmischer Skala die Werte mit nicht-nachweisbaren Keimen bei 0 belassen. Die Grenzen der Box entsprechen der 25. und 75. Perzentile, die Whisker darüber und darunter entsprechen der 5. und 95. Perzentile. Klammern: signifikante Verringerung der Keimzahl ($p < 0,05$).

Versuchsgruppe	Mittelwert	Standardabweichung	Median	Median in Log10
A	215.960,77	344.464,41	137.119,16	5,14
F	102.141,51	202.711,79	6.199,45	3,78
FR	40,88	82,26	0	0
M	20.541,59	54.083,07	1.225,78	3,07
MR	22,99	50,64	0	0
R	73.129,74	205.578	18,69	0,79

Tabelle 11: Mittelwerte, Median und Standardabweichung der Keimzahlen in KBE/g Knochen des linken Femurs

	F	FR	M	MR	R
A	0,488	0,001	0,075	0,001	0,018
F		0,001	0,168	0,001	0,037
FR			0,001	0,836	0,357
M				0,001	0,105
MR					0,263

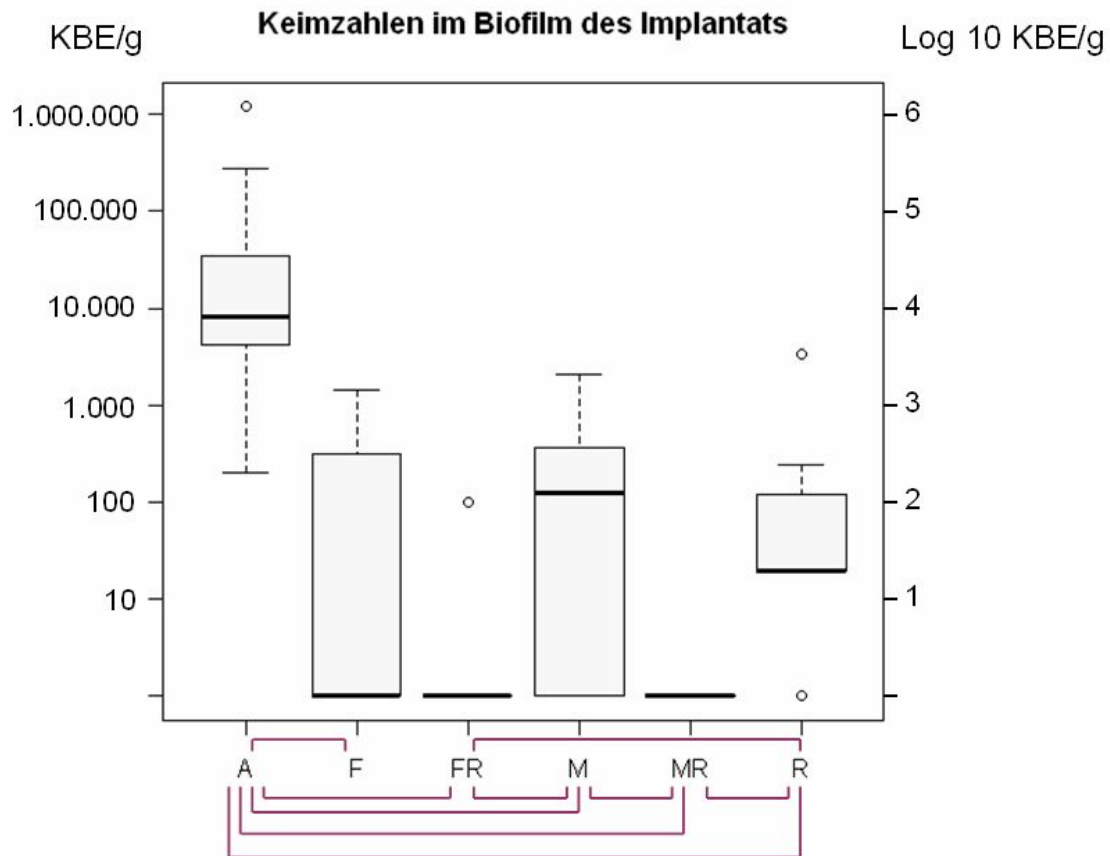
Tabelle 12: Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests. P-Werte im Vergleich (Knochengewebe des Femurs). Fettgedruckt: signifikante Ergebnisse

C) Implantat

Die mittleren Keimzahlen im vom Implantat entfernten Biofilm betrugen in der Kontrollgruppe A 3,91 log₁₀ KBE/Implantat, in der mit Moxifloxacin behandelten Versuchsgruppe M 2,10 log₁₀ KBE/Implantat und in der mit Rifampicin behandelten Versuchsgruppe R 1,30 log₁₀ KBE/Implantat (siehe Tabelle 13 und Graphik 4). Dagegen war der Biofilm in den Versuchsgruppen MR komplett, in FR bis auf eine Ausnahme und in F in sechs von zehn Fällen keimfrei.

Sowohl die Behandlung mit der Doppelantibiose Moxifloxacin und Rifampicin als auch Flucloxacilin und Rifampicin reduzierte die Keimzahl signifikant im Vergleich zur Kontrollgruppe A, zur Monotherapie mit Rifampicin und zur Monotherapie mit Moxifloxacin (p-Werte siehe Tabelle 14).

Im Vergleich zur Kontrollgruppe reduzierten außerdem auch alle Monotherapien (F, M, R) die Bakterienzahlen signifikant.



Graphik 4: Keimzahlen im Biofilm des Implantats in KBE/Implantat und Log10 KBE/Implantat nach 14-tägiger Monotherapie mit Moxifloxacin (M), Flucloxacillin (F) und Rifampicin (R) sowie jeweils in Kombination mit Rifampicin (MR, FR) im Vergleich zur mit Aqua behandelten Kontrollgruppe (A). Zur besseren graphischen Darstellung wurden trotz logarithmischer Skala die Werte mit nicht-nachweisbaren Keimen bei 0 belassen. Die Grenzen der Box entsprechen der 25. und 75. Perzentile, die Whisker darüber und darunter entsprechen der 5. und 95. Perzentile. Klammern: signifikante Verringerung der Keimzahl ($p < 0,05$).

Versuchsgruppe	Mittelwert	Standardabweichung	Median	Median in Log10
A	170.355,56	395.938,89	8.200	3,91
F	298	506,18	0	0
FR	11,11	33,33	0	0
M	416	663,51	140	2,10
MR	0	0	0	0
R	433,33	1.115,21	20	1,30

Tabelle 13: Mittelwert, Median und Standardabweichung der Keimzahlen im Biofilm des Implantats in KBE/Implantat

	F	FR	M	MR	R
A	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
F		0,232	0,405	0,136	0,567
FR			0,024	0,707	0,021
M				0,009	0,540
MR					0,005

Tabelle 14: Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests. P-Werte im Vergleich (Biofilm des Implantats). Fettgedruckt: signifikante Ergebnisse.

D) Resistenzentwicklung im Verlauf der Versuche

Vor Beginn des Experiments wurde die MHK für den verwendeten Stamm *S. aureus* ATCC29213 bestimmt. Die Werte lagen für Moxifloxacin bei 0,064 mg/l, für Rifampicin bei 0,008 mg/l und für Flucloxacillin bei 0,25 mg/l. Nach Durchführung der Versuche lag die MHK für Flucloxacillin in den getesteten Proben unverändert bei 0,25 mg/l. In der Versuchsgruppe mit Rifampicin als Monotherapie lag bei zwei Drittel der getesteten Proben die MHK unverändert bei 0,008 mg/l, ein Drittel der verwendeten Staphylokokken zeigte sich resistent gegenüber Rifampicin mit einer MHK von 24 mg/l bzw. darüber.

3.4 Zusammenfassung der Ergebnisse

In der durchgeführten Studie zeigten sich beide Kombinationen (Flucloxacillin bzw. Moxifloxacin mit Rifampicin) signifikant effektiver in der Therapie der Protheseninfektion mit *S. aureus*. Sowohl die Kultur des periprothetischen Weichteilgewebes, des Knochengewebes sowie des am Implantat haftenden Biofilms war bei beiden Gruppen in der überwiegenden Zahl der Proben steril gegenüber 3,9 bis 5,1 log 10 KBE/ g (Median) *S. aureus* in der Placebo-Gruppe.

In der Gruppe der Flucloxacillin-Monotherapie zeigten sich im Knochen und periartikulären Weichteilgewebe die höchsten Bakterienzahlen, im Weichteilgewebe praktisch so hoch wie in der Kontrollgruppe, im Knochen nicht signifikant weniger. Auffällig ist, dass der Biofilm des Implantates in dieser Gruppe bei 6 von 10 Versuchstieren steril war (Median der KBE/Implantat im Biofilm = 0) mit einem statistisch signifikanten Unterschied zur Kontrollgruppe, jedoch nicht zur Monotherapie mit Moxifloxacin oder Rifampicin.

Die Gruppe mit Moxifloxacin als Monotherapie zeigte im Knochen etwas niedrigere und im periartikulären Weichteilgewebe signifikant niedrigere Bakterienzahlen als die Monotherapie mit Flucloxacillin. Außerdem zeigten sich im Biofilm des Implantats signifikant weniger Keime als in der Kontrollgruppe.

Die Monotherapie mit Rifampicin zeigte im Vergleich zu den beiden vorher genannten niedrigere Bakterienzahlen, am auffälligsten im Knochen mit statistischer Signifikanz im Vergleich zur Kontrollgruppe und zur Flucloxacillin-Monotherapie sowie im Biofilm des Implantats mit statistischer Signifikanz im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Signifikante Unterschiede ergaben sich im Weichteilgewebe von den Kombinationstherapien Moxifloxacin-Rifampicin bzw. Flucloxacillin-Monotherapie zur Kontrollgruppe und zur Monotherapie mit Flucloxacillin.

Bei der Analyse der Bakterienzahlen im Knochengewebe zeigten sich zusätzlich signifikante Unterschiede beider Kombinationstherapien zur Moxifloxacin-Monotherapie.

Im Biofilm des Implantates waren auch im Vergleich beider Kombinationstherapien zur Rifampicin-Monotherapie signifikant weniger Bakterien nachweisbar.

Da der Biofilm des Implantats in der Gruppe mit Flucloxacillin-Monotherapie in der Mehrzahl der Fälle steril war (Median = 0), zeigte sich hier entsprechend ein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe.

4. DISKUSSION

4.1 Zum Tiermodell

Versuchsmodelle an Nagern sind anerkanntermaßen gut geeignet zur Untersuchung von bakteriellen Infektionen und zur Überprüfung von antibiotischen Behandlungsstrategien. In-vitro-Modelle können zwar helfen, die einzelnen Schritte der Entstehung von Biofilm und periprothetischer Infektion zu verstehen, jedoch bleiben mögliche komplexe Wechselwirkungen zwischen Bakterium, Wirt und Implantat dabei unberücksichtigt [98].

In klinischen Studien ist eine Standardisierung aufgrund der Heterogenität des Patientenkollektivs mit unterschiedlichen Komorbiditäten, der Heterogenität der inokulierten Bakterien mit unterschiedlicher Erregerart, Virulenz und unterschiedlicher Keimzahl sowie unterschiedlicher Infektionsentstehung und aufgrund der unterschiedlichen Behandlungsoptionen nur unzureichend möglich [47].

Nur im Tiermodell ist eine einheitliche Operationstechnik, eine bakterielle Kontamination mit standardisierten Bakterienstämmen und definierten Keimzahlen, ein jeweils identischer Beginn und eine identische Dauer der antibiotischen Behandlung sowie eine einheitliche mikrobiologische und laborchemische Untersuchungstechnik gewährleistet und somit ein quantitativer und qualitativer Vergleich möglich.

Dabei existiert eine Vielzahl verschiedener Modelle, die sich durch verschiedene Vorzüge und Nachteile auszeichnen. Die wichtigsten Erfolgskriterien eines Tiermodells sind eine 100 %ige lokale Infektionsrate und eine niedrige Mortalität. Das in der aktuellen Untersuchung verwendete Modell erzeugt eine lokale Protheseninfektion, wie es dem Mechanismus einer akuten bzw. verzögerten Protheseninfektion entspricht, welche oft auch intraoperativ entsteht. Ein anderes Vorgehen wäre eine sterile Fremdkörperimplantation mit nachfolgender hämatogener Infektion über intravenöse systemische Gabe von Mikroorganismen. Dieses Modell würde eher die Spätinfektion der Prothese nachahmen.

Um die Entwicklung der lokalen Infektion sicherzustellen, haben einige Autoren eine in-vitro Kontamination des Implantats vor der eigentlichen Implantation in das Versuchstier [53,54] oder durch zusätzliche lokale Applikation von sklerosierenden Substanzen wie z. B. Morrhuate empfohlen [55,56]. Jedoch verringern diese zusätzlichen Maßnahmen die Übertragbarkeit des Modells auf die natürliche Entstehung einer Protheseninfektion. Daher wurde im aktuellen Tierversuch bewusst darauf verzichtet, um die Biofilmbildung in vivo und die lokale Gewebepерfusion nicht zu beeinflussen. Um die Entwicklung einer lokalen Infektion sicherzustellen, war dafür die benutzte Inokulumdosis von *S. aureus* mit 10^7 KBE

höher als bei anderen Tiermodellen, in denen die Inokulumdosis zwischen 10^4 bis 10^6 KBE lag [99-101]. Die Verwendung einer sterilisierten Hohnadel als Fremdkörper erfolgte in Anlehnung an bereits publizierte Studien [53,101].

Das Ergebnis war eine lokale Infektionsrate im Bereich der operierten Femora von 100 %. Bei den Tieren der Kontrollgruppe, die keine antibiotische Therapie erhielten, zeigten sich erwartungsgemäß die schwersten Infektionen. Bei einem Tier kam es zur Fistelbildung mit eitriger Sekretion aus der Wunde. Ein anderes Tier zeigte eine ausgeprägte Infektion mit Symptomen einer Sepsis und musste deshalb euthanasiert werden. Ein weiteres Tier der Kontrollgruppe verstarb im postoperativen Versuchsverlauf. Dies ist möglicherweise auf die höhere Inokulumdosis, die mit erhöhtem Risiko einer Sepsisentwicklung einhergeht, zurückzuführen. Warum auch ein Tier der Gruppe FR im postoperativen Verlauf verstarb, blieb unklar.

Nicht bei allen Versuchstieren verlief die Implantation des Prüfkörpers komplikationslos. Zwar lag bei den meisten Tieren der Prüfkörper korrekterweise im Markraum des linken distalen Femurs, bei zwei Versuchstieren stellte sich jedoch bei der Fremdkörperexplantation heraus, dass der Prüfkörper extramedullär ins Muskelgewebe des linken Oberschenkels eingebracht worden war. Bei einem weiteren Versuchstier war der Prüfkörper durch das Knochengewebe des linken Femurs durchgebrochen und lag teilweise extramedullär im Muskelgewebe. Bis auf die drei Ausnahmen konnte eine Standardisierung des chirurgischen Prozederes, der Kontamination, der Explantation sowie der Analyse der Keimzahlen bzw. Antibiotikakonzentrationen erreicht werden. Im Vergleich zu anderen Tiermodellen, wie z. B. dem Modell mit Implantation subkutaner Käfige, ahmt dieses Modell die natürliche Entwicklung der Protheseninfektion besser nach. Das Tierkäfigmodell, das u. a. von Lucet et al. [51] und Chuard et al. [52] in Anlehnung an Zimmerli et al. (1982) [22] (siehe Einleitung) benutzt wurde, oder auch das Modell des intraabdominellen Fremdkörper-assoziierten Abszesses, das z. B. von Espersen et al. [49,102] oder Gallimore et al. [50] verwendet wurde, stellt zwar gut die Mechanismen und Physiologie eines Fremdkörper-Infekts nach, kann aber durch die fehlende intraossäre Lage des Fremdkörpers die Protheseninfektion als speziellen Fall der Fremdkörperinfektion nicht derart gut simulieren wie das in der aktuellen Untersuchung verwendete Modell. Jedoch weisen Modelle mit subkutan implantierten Fremdkörpern auch klare Vorteile auf. Durch die subkutane Lage können durchgehend Proben entnommen werden, um die momentane Situation im Fremdkörper zu überprüfen. Durch die zeitlich versetzte Implantation und Kontamination besteht die Möglichkeit sicherzustellen, dass die Infektion nicht perioperativ erfolgt durch Kontamination mit

Hautkeimen, sondern gezielt durch die gewünschte Art und Dosis von Mikroorganismen. Des Weiteren kann nach Kontamination die Entstehung der gewünschten Infektion vor Beginn der antibiotischen Therapie überprüft werden, ebenso die Antibiotikakonzentration am Wirkort.

Dies alles ist in dem Modell mit intramedullärem Fremdkörper nicht gegeben. Eine mögliche Kontamination durch Unsterilität oder Hautkeime während der Operation kann nur im Nachhinein in der mikrobiologischen Analyse festgestellt werden, wenn andere als die verwendeten Mikroorganismen nachweisbar sind. Auch der Erfolg der Infektionsinduktion konnte letztlich nur indirekt durch radiologische Merkmale einer Protheseninfektion bei der Röntgenaufnahme bzw. durch die anschließende makroskopische und mikrobiologische Untersuchung bestätigt werden. Ob bei allen Versuchstieren vor Beginn der Antibiose eine einheitliche standardisierte Protheseninfektion vorlag, lässt sich nicht sicher bestätigen, aufgrund der Standardisierung des chirurgischen Prozedere und der Bakteriensuspension sowie der gewonnenen Ergebnisse ist jedoch davon auszugehen.

Da die Infektion der Prothese sich zum einen Teil im Bereich des intramedullär liegenden Schaftes und zum anderen Teil auch intraartikulär abspielt, versuchen andere Arbeitsgruppen mit ihrem Modell, der Realität der Protheseninfektion noch weiter nahe zu kommen, indem sie einen echten partiellen Gelenkersatz durchführen. Der operative Aufwand ist jedoch wesentlich höher und auch die Anforderungen an das Fremdmaterial, das eine an die Anatomie des Versuchstieres angepasste, funktionsfähige Prothese darstellen muss. Auch muss die Versuchstierart groß genug sein, um dieses Verfahren durchführen zu können. Die wenigen Gruppen, die dieses durchführten [57,58], arbeiteten alle mit Kaninchen.

Im Vergleich dazu haben Ratten günstigere anatomische Proportionen, die das operative Vorgehen sowie die folgende bakterielle Kontamination vereinfachen und eine Standardisierung des experimentellen Vorgehens ermöglichen. Modelle mit Ratten als Versuchstier haben gegenüber Modellen mit Kaninchen oder noch größeren Versuchstieren den Vorteil, dass sie vergleichsweise Kosten sparend sind sowohl in Anschaffung als auch Pflege. Außerdem sind sie resistenter gegenüber negativen „Nebeneffekten“ einer Langzeitantibiotikatherapie wie beispielsweise der Ausbildung einer pseudomembranösen Kolitis. Aufgrund der geringen Größe kann zur Untersuchung des Knochens dieser relativ einfach in Mörsern zerkleinert werden ohne Anschaffung einer kostspieligen Knochenmühle zur mikrobiologischen Evaluation [47]. Für das aktuelle Vorhaben schien der erheblich höhere Aufwand für den zusätzlichen Nutzen, welche die intraartikuläre Fremdkörperkomponente mit sich bringt, nicht gerechtfertigt.

Nach Abschluss der eigenen tierexperimentellen Untersuchung veröffentlichten Bernthal et al. [15] 2010 ein ähnlich konzipiertes Tiermodell unter Verwendung einer retrograden Femurnagelung mit Mäusen als Versuchstier, mit dem sie in vivo die Wirksamkeit Antibiotika-impregnierter Implantate untersuchten.

4.2 Zur Antibiose

Ein Antibiotikum muss für die Wirkung auf Implantat-assoziierte Infektionen folgende Anforderungen erfüllen: Es muss in den Biofilm penetrieren können, aktiv sein gegen Oberflächen-adhärierende sowie gegen nicht-wachsende stationäre Bakterien; sein Wirkspektrum muss häufige Erreger der Protheseninfektion umfassen; außerdem benötigt es eine gute orale Bioverfügbarkeit [103]. Rifampicin ist ein Eckpfeiler in der Therapie der Protheseninfektion, da es alle erforderlichen Eigenschaften besitzt, um gegen Mikroorganismen in Biofilmen wirken zu können; es ist aktiv gegen Staphylokokken incl. MRSA, es kann oral gegeben werden, hat eine exzellente Bioverfügbarkeit und wird gut toleriert [104]. Seine Effektivität wurde sowohl in-vitro, in Tierversuchen als auch in klinischen Studien bewiesen. In-vitro kann Rifampicin stationäre, nicht-wachsende Staphylokokken abtöten, was eine Bedingung für die Wirkung auf Biofilme ist. Widmer et al [105] führten 1990 eine Studie zur Korrelation eines in-vitro-Modells mit einem in-vivo-Tiermodell zur antibiotischen Therapie von Fremdkörper-assoziierten Infektionen durch. Da routinemäßige Sensitivitätstest den therapeutischen Erfolg nicht sicher vorhersagen können, wurde ein in-vitro-Modell entwickelt, das besser mit der Wirksamkeit der Antibiotika korreliert, und mit einem Tiermodell mit subkutaner Käfig-Implantation in Meerschweinchen verglichen. Dabei wurden sechs Antibiotika (u. a. Ciprofloxacin und Rifampicin) anhand eines Bakterienstamms von *S. epidermidis* getestet. Es zeigte sich, dass nicht die minimale Hemmkonzentration, sondern die sog. Efficacy (die Wirksamkeit unter idealen Bedingungen) auf stationäre und adhärente Staphylokokken den Behandlungserfolg vorhersagen lässt. Rifampicin war in allen in-vitro-Experimenten und im Tiermodell am effizientesten, speziell in der Eradikation von stationären Bakterien.

Jedoch sollte Rifampicin nie als Monotherapie eingesetzt werden, da Staphylokokken durch eine Punktmutation in der DNA-abhängigen RNA-Polymerase leicht eine Resistenz entwickeln können. Dies geschieht mit einer Häufigkeit von etwa 1 zu 10^7 KBE und ist, abhängig von der Höhe der Inokulumdosis, bereits nach 24 bis 48 Stunden möglich [93]. Daher ist die Zugabe eines weiteren Antibiotikums erforderlich, um diese Resistenzbildung zu

verhindern. Zur Kombination sind dabei nicht alle Antibiotika gleich gut geeignet. Bereits 1985 konnten Eng et al. [106] in einem in-vitro Experiment mit 50 Isolaten von *S. aureus*-Stämmen den synergistischen Effekt des Staphylokokken-Penicillins Nafcillin mit Rifampicin zeigen. Im Vergleich zu Vancomycin konnte Nafcillin die Resistenzentwicklung gegenüber Rifampicin signifikant besser unterdrücken. Hierbei traten bei Rifampicin-Monotherapie Resistenzen in 84 % der Fälle auf, was durch Zugabe von Nafcillin auf 10 % reduziert werden konnte im Vergleich zu 50 %iger Resistenzentwicklung bei Zugabe von Vancomycin.

Auch in zahlreichen tierexperimentellen Studien, die die Effektivität neuer Antibiotika zur Therapie der Protheseninfektion untersuchten, stellte sich heraus, dass eine Kombinationstherapie meist effektiver war als eine Monotherapie. In einem Tiermodell mit Hasen zur Knieprotheseninfektion mit *S. aureus* von Saleh-Mhgir et al. 2002 [75] war die Kombinationstherapie mit Rifampicin sowohl mit Vancomycin als auch Synercid signifikant effektiver als beide Monotherapien.

1990 testeten Dworkin et al. [76] die Kombinationstherapie der Quinolone Ciprofloxacin und Pefloxacin sowie von Vancomycin, jeweils mit Rifampicin in einem Ratten-Tiermodell einer chronischen Osteomyelitis. Dabei waren die Kombinationstherapien mit Rifampicin am effektivsten. Auffällig war in dieser Studie, dass bei den Monotherapien Rifampicin signifikant besser war als die anderen Antibiotika, da in dieser Studie kaum Resistenzen gegen Rifampicin auftraten.

Auch bei O'Reilly et al. [77] waren 1992 in ihrem Ratten-Osteomyelitis-Modell mit *S. aureus* die Kombinationen von Azithromycin mit Rifampicin bzw. Clindamycin mit Rifampicin effektiver als die jeweilige Monotherapie. Die Rifampicin-Monotherapie zeigte sich effektiver als die Monotherapien mit Azithromycin bzw. Clindamycin, war jedoch aufgrund der Resistenzentwicklung weniger effektiv als die Kombinationstherapien.

In der klinischen Routine wird bei Vorliegen einer Protheseninfektion Rifampicin initial mit dem seit lange bewährten Staphylokokkenpenicillin Flucloxacillin kombiniert, meist in parenteraler Form, und nach zwei Wochen aufgrund der einfacheren, ambulanten Durchführbarkeit, auf eine orale Antibiose umgestellt. Hier ist der häufigste Kombinationspartner für Rifampicin ein Quinolone, da es ein ähnliches Wirkspektrum sowie ähnliche pharmakokinetische Eigenschaften mit guter oraler Bioverfügbarkeit besitzt, gut toleriert wird und wie Rifampicin hohe intrazelluläre Konzentrationen erreicht und somit gegen Staphylokokken auch intrazellulär wirkt [13,104].

Klinische Studien zu verschiedenen Quinolonen konnten die Wirksamkeit der Kombinationstherapie bestätigen. Drancourt et al. [107] zeigten in einer prospektiven Kohortenstudie mit 47 Patienten mit einer Staphylokokkeninfektion einer Prothese für eine orale Langzeitantibiose aus der Kombination Ofloxacin und Rifampicin eine Erfolgsrate von insgesamt 74 % bzw. von 62 % in der Gruppe von 21 Patienten, in der die Prothese nicht entfernt wurde. Die meisten Therapieversager waren durch resistente Staphylokokken bedingt.

In einer multizentrischen, randomisierten Studie mit insgesamt 127 Patienten mit durch Staphylokokken induzierten Infektionen untersuchten Schrenzel et al. 2004 [108] die Wirksamkeit der oral verabreichten Kombinationstherapie des Chinolons Ofloxacin mit Rifampicin im Vergleich zur intravenös verabreichten Standardtherapie mit Flucloxacillin bzw. Vancomycin (bei Vorliegen von Methicillin-resistenten Keimen). 104 der Patienten zeigten Anzeichen einer Bakteriämie oder eine Infektion der tiefen Weichteile durch *S. aureus*, 23 Patienten litten an einer Katheter-assoziierten Bakteriämie durch koagulase-negative Staphylokokken. Die Autoren konnten zeigen, dass die Wirksamkeit und Sicherheit beider Antibiotika-Gruppen vergleichbar war insbesondere auch in der Gruppe mit invasiven Infektionen durch *S. aureus* war die orale Therapie mit Ofloxacin-Rifampicin genauso wirksam wie die parenterale Standardtherapie. Die Aufenthaltsdauer im Krankenhaus war in der Ofloxacin-Rifampicin-Gruppe kürzer, jedoch zeigten sich in dieser Gruppe mehr unerwünschte Wirkungen. Die Autoren folgerten, die Kombination eines Fluorchinolons mit Rifampicin sei eine wirksame Alternative in der Therapie von Staphylokokken-Infektionen, die eine frühere Entlassung der Patienten aus dem Krankenhaus ermöglichen könnte.

Zimmerli et al. [42] führten von 1992 bis 1997 eine randomisierte Placebo-kontrollierte, doppel-blinde klinische Studie mit 33 Patienten zur Rolle von Rifampicin in der Therapie der Protheseninfektion durch. Alle Patienten hatten eine in der Kultur bestätigte Infektion bei stabiler Gelenkprothese mit einer kurzen Symptombdauer, die nicht über ein Jahr dauern durfte (tatsächlich 0 bis 21 Tage). In der Mehrzahl der Fälle handelte es sich um Infektionen mit Methicillin-sensiblen *S. aureus*, seltener um *S. epidermidis*, von denen zwei von sieben eine Methicillin-Resistenz aufwiesen. Alle Patienten wurden initial mit einem chirurgischen Debridement behandelt. Es folgte eine 2-wöchige intravenöse antibiotische Therapie, je nach Studienarm mit Flucloxacillin oder Vancomycin plus Rifampicin oder Placebo. Anschließend wurde die Antibiose oral fortgesetzt mit Ciprofloxacin plus Rifampicin oder Placebo für drei Monate im Falle einer Hüft-Prothese oder Osteomyelitis mit einem anderen internen Fixationsmaterial bzw. sechs Monate im Falle einer Knieprothese. Heilung wurde definiert als

Abwesenheit klinischer Symptome bzw. Symptome für eine Entzündung, einem CRP-Wert unter 5 mg/l und Fehlen radiologischer Merkmale einer Prothesenlockerung bzw. –infektion in der Follow-Up-Untersuchung nach 24 Monaten. Behandlungsmisserfolg wurde definiert durch persistierende Symptomatik oder persistierende bzw. neue Isolation der ursprünglichen Mikroorganismen. Die Ergebnisse beziehen sich auf die orale Langzeitantibiose mit Ciprofloxacin und Placebo (15 Patienten) bzw. Rifampicin (18 Patienten), wobei drei bzw. sechs Patienten drop-outs waren. Die Heilungsraten waren in der Rifampicin-Gruppe mit 100 % (12 von 12, 6 drop-outs) signifikant höher als in der Placebo-Gruppe mit Ciprofloxacin-Monotherapie (58 %: 7 von 12, 3 drop-outs) ($p = 0,019$). Nicht in allen Fällen wurde zur Bestätigung der Heilung eine posttherapeutische Punktion und Kultur durchgeführt. Die Behandlungsmisserfolge waren jedoch alle mikrobiologisch bestätigt, vier der fünf Fälle zeigten eine Resistenzentwicklung gegenüber Ciprofloxacin (drei Methicillin-sensible Staphylokokken und ein Methicillin-sensitiver *S. epidermidis*).

Neue Fluorchinolone wie Levofloxacin, Moxifloxacin und Gatifloxacin zeichnen sich gegenüber den Chinolonen der 1. Generation (Ciprofloxacin oder Ofloxacin) durch ein breiteres Wirkspektrum (verbesserte Wirksamkeit gegen grampositive Mikroorganismen bei erhaltener Wirksamkeit gegenüber gramnegativen sowie anaeroben Bakterien), eine hervorragende Pharmakokinetik mit guter Gewebegängigkeit sowie guter oraler Bioverfügbarkeit und wenig Nebenwirkungen aus [109]. Speziell Moxifloxacin zeigt eine verbesserte Wirksamkeit gegenüber intrazellulär gelegenen Staphylokokken [85]. Zahlreiche Studien konnten zeigen, dass das Risiko für eine Resistenzentwicklung während einer Moxifloxacin-Therapie geringer scheint als bei älteren Quinolonen [67,110,111]. Daher stellt Moxifloxacin eine vielversprechende Alternative zur Standardtherapie mit Ciprofloxacin dar. Die Effektivität neuerer Fluorchinolone wurde bereits in mehreren tierexperimentellen Studien überprüft.

2001 nutzten Shirliff et al. [73] ein Kaninchen-Modell einer durch *S. aureus* induzierten Osteomyelitis, um die Effektivität des Chinolons Gatifloxacin mit der Standardtherapie, der intravenösen Gabe eines Oxacillins, in diesem Fall das in den USA gebräuchliche Nafcillin, zu vergleichen. Während einer 28-tägigen antibiotischen Therapie vom 14. bis 42. postoperativen Tag wurden den Kaninchen Nafcillin 4 x /die intravenös in einer Dosis von 30 mg/kg KG und Levofloxacin in einer Dosis von 40 mg/kg KG 1x /die oral verabreicht. In der Nafcillin-Gruppe zeigten sich signifikant weniger Infektionen im Bereich der Tibia (10 %) als in der Gruppe mit Levofloxacin-Therapie (50 %). Die Autoren führen die ungünstige Pharmakokinetik als eine mögliche Ursache für diese Ergebnisse an. Auswertungen ergaben,

dass Levofloxacin nach oraler Einmalgabe bereits nach 12 Stunden im Serum praktisch nicht mehr nachweisbar war. Deshalb forderten sie weitergehende Untersuchungen mit höheren Dosierungen oder mit einem anderen Dosierungsintervall. Eine solche Untersuchung führte die Gruppe um Shirtliff et al. dann 2002 [112] mit dem gleichen Tiermodell und einem anderen Chinolon, Gatifloxacin, durch. Die Dosis betrug diesmal 80 mg/KG/die, aufgeteilt auf zwei Einzeldosen von 40 mg/kg alle 12 Stunden. Die Vergleichsgruppe erhielt wiederum eine Standard-i.v.-Antibiose mit Nafcillin. Diesmal zeigte sich, dass Gatifloxacin genauso effektiv war wie Nafcillin in der Eradikation der tierexperimentellen Osteomyelitis. Somit scheint die Therapie mit neueren Fluorchinolonen eine wirksame Alternative zur Therapie mit Oxacillinen.

In zahlreichen in-vitro und in-vivo Studien zur Protheseninfektion zeigte sich auch Moxifloxacin als effektiv wirksam gegen grampositive Bakterien und war insbesondere wesentlich effektiver als die älteren Fluorchinolone wie Ciprofloxacin.

1999 konnten Dalhoff et al. [65] in einer in-vitro-Studie die im Vergleich zu älteren Quinolonen wie Ciprofloxacin deutlich verbesserte Wirksamkeit von Moxifloxacin gegenüber grampositiven Organismen, insbesondere gegenüber *S. aureus*, zeigen. Jones et al. [66] testeten 1999 die in-vitro Aktivität von acht Quinolonen und vier weiteren Nicht-Quinolon-Antibiotika an 96 Ciprofloxacin-sensiblen und 205 Ciprofloxacin-resistenten Stämmen von *S. aureus*. Dabei war Moxifloxacin nach Clinafloxacin das zweiteffektivste Antibiotikum, auch gegen Ciprofloxacin-resistente Stämme. Ähnliche Ergebnisse zeigten Hoogkamp-Korsanje und Roelofs-Willemse 2002 [62]. Frippiat et al. [113] berichteten über klinische Erfahrungen mit sieben Patienten mit einer Protheseninfektion durch Staphylokokken bzw. Streptokokken, die nach initialer 2-wöchiger parenteraler Therapie mit Oxacillin anschließend über mehrere Monate mit den neuen Fluorchinolonen Moxifloxacin (fünf Patienten) bzw. Levofloxacin (zwei Patienten) behandelt wurden. Aufgrund der Ergebnisse empfahlen Frippiat et al. die Verwendung von Moxifloxacin kombiniert mit Rifampicin zur Therapie der periprothetischen Infektion, insbesondere wenn eine Langzeitantibiose in Erwägung gezogen wird.

Das bestätigen auch die Ergebnisse der eigenen tierexperimentellen Studie. Moxifloxacin zeigte sich in Kombination mit Rifampicin genauso wirksam wie die Kombination von Flucloxacillin und Rifampicin in der Therapie der tierexperimentellen periprothetischen Infektion. Die gewonnenen Ergebnisse verdeutlichen noch einmal die zentrale Rolle der Kombinationstherapie, insbesondere mit Rifampicin. Nur durch die Kombinationstherapien

mit Rifampicin konnten in der überwiegenden Zahl der Proben der experimentell erzeugten Fremdkörperinfektion keine Keime nachgewiesen werden. Im Knochen und periartikulären Weichgewebe konnte weder die Monotherapie mit Moxifloxacin noch mit Flucloxacillin die Anzahl von *S. aureus* im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant verringern. Im Biofilm des Implantats dagegen waren auch alle Monotherapien signifikant besser als die Kontrollgruppe, was die Wirksamkeit der Antibiotika gegenüber im Biofilm lebender sessiler Bakterien zeigt. Insgesamt zeigte sich Moxifloxacin als Monotherapie etwas effektiver als Flucloxacillin, insbesondere im periartikulären Weichteilgewebe.

Die Rifampicin-Monotherapie zeigte signifikante Keimreduktion im Biofilm des Implantats im Vergleich zur Kontrollgruppe bzw. im Knochengewebe sowohl zur Kontrollgruppe als auch zur Gruppe mit Flucloxacillin-Monotherapie. Im periartikulären Weichteilgewebe kam es zu keiner signifikanten Keimreduktion. Diese Ergebnisse bestätigen, dass Rifampicin insbesondere für seine gute Knochengängigkeit und -wirksamkeit, v. a. in entzündetem Knochengewebe, bekannt ist [93]. Dass die Monotherapie mit Rifampicin schnell zu Resistenzen führt, ist bekannt. In der aktuellen tierexperimentellen Untersuchung kam es in einem Drittel der Fälle während der Rifampicin-Monotherapie zur Resistenzbildung. Daher ist die Zugabe eines weiteren Antibiotikums erforderlich, um diese Resistenzbildung zu verhindern. Dann stellt Rifampicin eines der effektivsten Antibiotika in der Protheseninfektion dar. Zur Kombination sind sowohl Quinolone als auch Oxacilline geeignet, wie im aktuellen Tierversuch demonstriert.

Als Monotherapie zeigte sich Moxifloxacin in der Keimeradikation im Bereich des periartikulären Weichteilgewebes sogar signifikant besser als Flucloxacillin. Beide Antibiotikaklassen sind speziell gegen die häufigsten Erreger der Protheseninfektion (*S. aureus* und koagulase-negative Staphylokokken) wirksam. Sowohl ältere wie neuere Quinolone zeichnen sich durch ein breiteres Wirkspektrum aus, das auch gramnegative und anaerobe Keime umfasst, die ebenfalls als Erreger der Protheseninfektion in Frage kommen. Dabei zeigt die neuere Generation eine verbesserte Wirksamkeit im grampositiven Keimspektrum gegenüber den älteren Quinolonen. Im Gegensatz dazu ist Flucloxacillin ein reines Staphylokokken-Penicillin mit einem schmalen Wirkspektrum. Nachteilig ist auch, dass es meist eine parenterale Gabe erfordert, und zwar mehrmals täglich aufgrund der kurzen Halbwertszeit.

Ein weiterer Vorteil der Quinolone gegenüber den Oxacillinen ist die gute orale Bioverfügbarkeit mit vergleichbaren Gewebekonzentrationen nach intravenöser und oraler Gabe, die es ermöglicht, mit einer intravenösen Therapie zu beginnen und diese dann auf

orale Gaben umstellen zu können. Auch ist aufgrund der günstigen Pharmakokinetik (terminale Halbwertszeit von 12 Stunden und post-antibiotischer Effekt) eine Einmalgabe von 400 mg/die Moxifloxacin möglich [68,69,114,115].

Dadurch könnte der Krankenhausaufenthalt von Patienten verkürzt und somit Behandlungskosten reduziert und sekundäre Komplikationen wie z. B. nosokomiale Infektionen etc. vermieden werden [116].

4.3 Fazit

Sowohl die Kombination von Flucloxacillin als auch von Moxifloxacin mit Rifampicin zeigte sich in der durchgeführten tierexperimentellen Studie wirksam in der Therapie der durch *S. aureus* verursachten Protheseninfektion. Bei gleichwertiger Wirksamkeit stellt Moxifloxacin aufgrund vieler weiterer vorteilhafter Eigenschaften, wie die bessere Pharmakokinetik, die eine orale Einmaldosierung ermöglicht, das erweiterte Wirkspektrum im Vergleich zu Flucloxacillin oder älteren Chinolonen sowie das momentan günstigere Resistenzprofil (gegenüber älteren Fluorchinolonen wie Ciprofloxacin) eine vielversprechende Alternative zu Flucloxacillin in der Therapie der Protheseninfektionen dar. Die zentrale Rolle des Rifampicins als eines der potentesten Antibiotika in der Kombinationstherapie der Protheseninfektion bleibt unbestritten.

4.4 Zur Übertragbarkeit

Einschränkend muss angemerkt werden, dass es sich hier um eine idealisierte tierexperimentelle Untersuchung mit beschränkter Fallzahl von ca. 10 Tieren pro Versuchsgruppe handelt. Dies ist jedoch die einzige Möglichkeit, um verschiedene Faktoren, die während einer klinischen Untersuchung am Menschen passieren könnten, zu überprüfen. Um allgemeine Empfehlungen zum klinischen Gebrauch einer Therapie der Protheseninfektion mit Moxifloxacin geben zu können, sind weitere, klinische Erprobungen erforderlich.

Auch ist die systemische antibiotische Therapie nur eine Säule in der Therapie der Protheseninfektion. Effektive Antibiotika verbessern dabei die Erfolgschancen einer kombinierten chirurgischen und medikamentösen Therapie. In einigen Fällen können sie z. B. alternative Behandlungsstrategien, wie z. B. den einzeitigen Prothesenersatz anstelle des für den Patienten unangenehmeren zweizeitigen Prothesenersatzes, ermöglichen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Eine Protheseninfektion ist eine schwerwiegende Komplikation nach künstlichem Gelenkersatz, die mit einer erheblichen psychischen und physischen Belastung des Patienten verbunden ist. Auch wenn die Inzidenz der Protheseninfektion aufgrund verbesserter Operationstechnik, Implantaten und Hygiene gesenkt werden konnte, wird sie aufgrund der hohen und in den kommenden Jahren aufgrund der Altersstruktur weiter steigenden Anzahl an Prothesenimplantationen und Prothesenwechseloperationen eine zunehmende Rolle spielen. Die Therapie besteht aus oft mehrfachen Operationen und einer Langzeitantibiose über einen Zeitraum von drei bis sechs Monaten. Ein Problem ist dabei die Resistenzentwicklung gegenüber konventionellen Antibiotika, die die Entwicklung neuer Antibiotika erforderlich macht. In der Standardtherapie wird initial meist Rifampicin mit einem Staphylokokken-Penicillin (z. B. Flucloxacillin) parenteral kombiniert. Nach ca. zwei Wochen erfolgt eine Umstellung auf eine orale Kombination von Rifampicin mit einem Quinolone, meist einem der älteren Generation, z. B. Ciprofloxacin.

Die aktuelle tierexperimentelle Untersuchung sollte überprüfen, ob auch neuere Quinolone wie Moxifloxacin eine effektive Alternative in der Therapie der Protheseninfektion sind. Einschränkung muss angemerkt werden, dass es sich hier um eine tierexperimentelle Untersuchung mit kleiner Fallzahl von ca. 10 Tieren pro Versuchsgruppe handelt. Eine Verallgemeinerung und Übertragung auf Protheseninfektionen am Menschen ist nur bedingt möglich. Hierfür sind weitere, klinische Erprobungen erforderlich.

Im Tiermodell erfolgte bei insgesamt 66 männlichen Wistar-Ratten eine intramedulläre Implantation eines Fremdkörpers (sterilisierte Hohnadel) in das distale Femur im Sinne einer retrograden Femurnagelung. Das Implantat wurde intraoperativ durch intramedulläre Injektion einer Bakteriensuspension von 10^7 KBE eines Methicillin-sensiblen *S. aureus*-Stammes (ATCC 29213) infiziert. Nach sieben Tagen, in denen sich eine lokale Infektion entwickeln konnte, erfolgte eine 14-tägige intraperitoneal applizierte Antibiose. Dabei wurde die Standardtherapie Flucloxacillin (200 mg/kg KG 3x/die intraperitoneal) mit dem Quinolone Moxifloxacin (10 mg/kg KG 2x/die i.p.) und mit einer Monotherapie mit Rifampicin (20 mg/kg KG 1x/die i.p.) sowie mit Kombinationstherapien aus Moxifloxacin und Rifampicin bzw. Flucloxacillin und Rifampicin verglichen. Nach einem Antibiotika-freien Intervall von 2 Tagen wurde die Keimzahl im Knochen, periartikulären Weichteilgewebe und Biofilm des Implantats bestimmt. Die gewonnenen Ergebnisse verdeutlichen die zentrale Rolle der Kombinationstherapie, insbesondere mit Rifampicin, zur Therapie der

Protheseninfektion. Beide Kombinationstherapien reduzierten die Keimzahl in der experimentell erzeugten Fremdkörperinfektion signifikant. Die Monotherapie mit Moxifloxacin oder Flucloxacillin konnte die Anzahl von *S. aureus* im Vergleich zur Kontrollgruppe nur im Biofilm des Implantats, nicht aber im Knochen und periartikulären Weichgewebe signifikant verringern. Bei der Rifampicin-Monotherapie zeigte sich im Knochen und im Biofilm des Implantats eine signifikante Keimreduktion gegenüber der Kontrollgruppe, im Knochen auch gegenüber der Flucloxacillin-Monotherapie. Jedoch hatte posttherapeutisch ein Drittel der Keime eine Resistenz gegenüber Rifampicin entwickelt, was ein bekanntes Problem darstellt. Zur Verhinderung der Resistenzbildung ist die Zugabe eines weiteren Antibiotikums erforderlich. Dafür sind nach den Ergebnissen des Tierexperimentes sowohl Quinolone als auch Oxacilline geeignet. Beide Antibiotikaklassen sind speziell gegen die häufigsten Erreger der Protheseninfektion (*S. aureus* und koagulase-negative Staphylokokken) wirksam. Neue Fluorchinolone wie Moxifloxacin zeichnen sich gegenüber den Chinolonen der 1. Generation (wie z. B. das standardmäßig bei Protheseninfektion eingesetzte Ciprofloxacin) durch ein breiteres Wirkspektrum, insbesondere im grampositiven Spektrum, aus und besitzen breite Wirksamkeit im grampositiven und gramnegativen Bereich im Gegensatz zu Flucloxacillin, welches ein reines Staphylokokken-Penicillin mit einem schmalen Wirkspektrum darstellt. Ein weiterer Nachteil des Flucloxacillin ist, dass es aufgrund der kurzen Halbwertszeit eine mehrmals tägliche, meist parenterale Gabe erfordert. Quinolone dagegen haben günstigere pharmakokinetische Eigenschaften, die eine orale Einmalgabe ermöglichen. Momentan zeigt Moxifloxacin ein günstigeres Resistenzprofil als Ciprofloxacin. In der durchgeführten tierexperimentellen Studie zeigte Moxifloxacin eine zumindest gleiche, speziell im Bereich des periartikulären Weichteilgewebes sogar eine bessere Wirksamkeit im Vergleich zur Standardtherapie, so dass aufgrund vieler weiterer vorteilhafter Eigenschaften die Kombination von Moxifloxacin und Rifampicin eine echte Alternative zur Standardkombination Flucloxacillin und Ciprofloxacin in der Therapie der Protheseninfektionen darstellt.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. Wirth C.J.(Herausg.): Praxis der Orthopädie. Thieme, Stuttgart. 3. Auflage. 2001.
2. Bitzer EM, Grobe TG, Neusser S et al.: Barmer GEK-Report Krankenhaus. 2010.
3. Geipel U, Herrmann M: [The infected implant: bacteriology]. Unfallchirurg 2005: 108:961-975.
4. Brause BD.: Infections with Prostheses in Bones and Joints. In: Mandell G.L., Bennett J.E., Dolin R.(Herausg.): Principles and Practice of Infectious Diseases. Churchill Livingstone, Philadelphia. 6. Auflage. 2005: 1332-1337.
5. Nguyen LL, Nelson CL, Saccente M et al.: Detecting bacterial colonization of implanted orthopaedic devices by ultrasonication. Clin Orthop Relat Res 2002:29-37.
6. Trampuz A, Zimmerli W: Prosthetic joint infections: update in diagnosis and treatment. Swiss Med Wkly 2005: 135:243-251.
7. Zimmerli W, Trampuz A, Ochsner PE: Prosthetic-joint infections. N Engl J Med 2004: 351:1645-1654.
8. Tsukayama DT, Estrada R, Gustilo RB: Infection after total hip arthroplasty. A study of the treatment of one hundred and six infections. J Bone Joint Surg Am 1996: 78:512-523.
9. Laffer R, Ruef C: [Diagnosis and treatment of prosthetic joint infections]. Z Rheumatol 2006: 65:12, 14-12, 17.
10. Maderazo EG, Judson S, Pasternak H: Late infections of total joint prostheses. A review and recommendations for prevention. Clin Orthop Relat Res 1988:131-142.
11. Murdoch DR, Roberts SA, Fowler JV, Jr. et al.: Infection of orthopedic prostheses after Staphylococcus aureus bacteremia. Clin Infect Dis 2001: 32:647-649.
12. Sharkey PF, Hozack WJ, Rothman RH et al.: Insall Award paper. Why are total knee arthroplasties failing today? Clin Orthop Relat Res 2002:7-13.
13. Barberan J: Management of infections of osteoarticular prosthesis. Clin Microbiol Infect 2006: 12 Suppl 3:93-101.
14. Arciola CR, Alvi FI, An YH et al.: Implant infection and infection resistant materials: a mini review. Int J Artif Organs 2005: 28:1119-1125.
15. Bernthal NM, Stavrakis AI, Billi F et al.: A mouse model of post-arthroplasty Staphylococcus aureus joint infection to evaluate in vivo the efficacy of antimicrobial implant coatings. PLoS One 2010: 5:e12580.
16. Trampuz A, Zimmerli W: Antimicrobial agents in orthopaedic surgery : prophylaxis and treatment. Drugs 2006: 66:1089-1105.
17. Trampuz A, Osmon DR, Hanssen AD et al.: Molecular and antibiofilm approaches to prosthetic joint infection. Clin Orthop Relat Res 2003:69-88.
18. Donlan RM: Biofilms: microbial life on surfaces. Emerg Infect Dis 2002: 8:881-890.
19. Costerton JW, Montanaro L, Arciola CR: Biofilm in implant infections: its production and regulation. Int J Artif Organs 2005: 28:1062-1068.
20. Proctor RA, von Eiff C, Kahl BC et al.: Small colony variants: a pathogenic form of bacteria that facilitates persistent and recurrent infections. Nat Rev Microbiol 2006: 4:295-305.
21. Zimmerli W, Lew PD, Waldvogel FA: Pathogenesis of foreign body infection. Evidence for a local granulocyte defect. J Clin Invest 1984: 73:1191-1200.
22. Zimmerli W, Waldvogel FA, Vaudaux P, Nydegger UE: Pathogenesis of foreign body infection: description and characteristics of an animal model. J Infect Dis 1982: 146:487-497.
23. Bauer TW, Parvizi J, Kobayashi N, Krebs V: Diagnosis of periprosthetic infection. J Bone Joint Surg Am 2006: 88:869-882.

24. Di Cesare PE, Chang E, Preston CF, Liu CJ: Serum interleukin-6 as a marker of periprosthetic infection following total hip and knee arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am* 2005; 87:1921-1927.
25. Trampuz A, Hanssen AD, Osmon DR et al.: Synovial fluid leukocyte count and differential for the diagnosis of prosthetic knee infection. *Am J Med* 2004; 117:556-562.
26. Trampuz A, Steckelberg JM, Osmon DR et al.: Advances in the laboratory diagnosis of prosthetic joint infections. *Rev Med Microbiol* 2003; 14: 1-14.
27. Atkins BL, Athanasou N, Deeks JJ et al.: Prospective evaluation of criteria for microbiological diagnosis of prosthetic-joint infection at revision arthroplasty. The OSIRIS Collaborative Study Group. *J Clin Microbiol* 1998; 36:2932-2939.
28. Trampuz A, Piper KE, Jacobson MJ et al.: Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. *N Engl J Med* 2007; 357:654-663.
29. Tigges S, Stiles RG, Roberson JR: Appearance of septic hip prostheses on plain radiographs. *AJR Am J Roentgenol* 1994; 163:377-380.
30. Stumpe KD, Notzli HP, Zanetti M et al.: FDG PET for differentiation of infection and aseptic loosening in total hip replacements: comparison with conventional radiography and three-phase bone scintigraphy. *Radiology* 2004; 231:333-341.
31. Zimmerli W, Ochsner PE: Management of infection associated with prosthetic joints. *Infection* 2003; 31:99-108.
32. Zimmerli W: Infection and musculoskeletal conditions: Prosthetic-joint-associated infections. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2006; 20:1045-1063.
33. Smith SL, Wastie ML, Forster I: Radionuclide bone scintigraphy in the detection of significant complications after total knee joint replacement. *Clin Radiol* 2001; 56:221-224.
34. Corstens FH, van der Meer JW: Nuclear medicine's role in infection and inflammation. *Lancet* 1999; 354:765-770.
35. Hain SF, Fogelman I: Nuclear medicine studies in metabolic bone disease. *Semin Musculoskelet Radiol* 2002; 6:323-329.
36. Ivancevic V, Perka C, Hasart O et al.: Imaging of low-grade bone infection with a technetium-99m labelled monoclonal anti-NCA-90 Fab' fragment in patients with previous joint surgery. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2002; 29:547-551.
37. Nanni C, Errani C, Boriani L et al.: 68Ga-citrate PET/CT for evaluating patients with infections of the bone: preliminary results. *J Nucl Med* 2010; 51:1932-1936.
38. Love C, Pugliese PV, Afriyie MO et al.: 5. Utility of F-18 FDG Imaging for Diagnosing the Infected Joint Replacement. *Clin Positron Imaging* 2000; 3:159.
39. Giulieri SG, Graber P, Ochsner PE, Zimmerli W: Management of infection associated with total hip arthroplasty according to a treatment algorithm. *Infection* 2004; 32:222-228.
40. Trebse R, Pisot V, Trampuz A: Treatment of infected retained implants. *J Bone Joint Surg Br* 2005; 87:249-256.
41. Davis JS: Management of bone and joint infections due to *Staphylococcus aureus*. *Intern Med J* 2005; 35 Suppl 2:S79-S96.
42. Zimmerli W, Widmer AF, Blatter M et al.: Role of rifampin for treatment of orthopedic implant-related staphylococcal infections: a randomized controlled trial. Foreign-Body Infection (FBI) Study Group. *JAMA* 1998; 279:1537-1541.
43. van de BH, Neut D, Schenk W et al.: Infection of orthopedic implants and the use of antibiotic-loaded bone cements. A review. *Acta Orthop Scand* 2001; 72:557-571.
44. Gosden PE, MacGowan AP, Bannister GC: Importance of air quality and related factors in the prevention of infection in orthopaedic implant surgery. *J Hosp Infect* 1998; 39:173-180.

45. Dellinger EP, Gross PA, Barrett TL et al.: Quality standard for antimicrobial prophylaxis in surgical procedures. Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis 1994: 18:422-427.
46. Classen DC, Evans RS, Pestotnik SL et al.: The timing of prophylactic administration of antibiotics and the risk of surgical-wound infection. N Engl J Med 1992: 326:281-286.
47. Kalicke T, Schlegel U, Kraft C et al.: [Animal models of osteomyelitis]. Orthopade 2004: 33:260-266.
48. An YH, Friedman RJ: Animal models of orthopedic implant infection. J Invest Surg 1998: 11:139-146.
49. Espersen F, Frimodt-Moller N, Corneliussen L et al.: Effect of treatment with methicillin and gentamicin in a new experimental mouse model of foreign body infection. Antimicrob Agents Chemother 1994: 38:2047-2053.
50. Gallimore B, Gagnon RF, Subang R, Richards GK: Natural history of chronic Staphylococcus epidermidis foreign body infection in a mouse model. J Infect Dis 1991: 164:1220-1223.
51. Lucet JC, Herrmann M, Rohner P et al.: Treatment of experimental foreign body infection caused by methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Antimicrob Agents Chemother 1990: 34:2312-2317.
52. Chuard C, Herrmann M, Vaudaux P et al.: Successful therapy of experimental chronic foreign-body infection due to methicillin-resistant Staphylococcus aureus by antimicrobial combinations. Antimicrob Agents Chemother 1991: 35:2611-2616.
53. Gracia E, Lacleriga A, Monzon M et al.: Application of a rat osteomyelitis model to compare in vivo and in vitro the antibiotic efficacy against bacteria with high capacity to form biofilms. J Surg Res 1998: 79:146-153.
54. Monzon M, Garcia-Alvarez F, Lacleriga A et al.: A simple infection model using pre-colonized implants to reproduce rat chronic Staphylococcus aureus osteomyelitis and study antibiotic treatment. J Orthop Res 2001: 19:820-826.
55. Mayberry-Carson KJ, Tober-Meyer B, Smith JK et al.: Bacterial adherence and glycocalyx formation in osteomyelitis experimentally induced with Staphylococcus aureus. Infect Immun 1984: 43:825-833.
56. Kaarsemaker S, Walenkamp GH, vd Bogaard AE: New model for chronic osteomyelitis with Staphylococcus aureus in sheep. Clin Orthop Relat Res 1997:246-252.
57. Southwood RT, Rice JL, McDonald PJ et al.: Infection in experimental arthroplasties. Clin Orthop Relat Res 1987:33-36.
58. Belmatoug N, Cremieux AC, Bleton R et al.: A new model of experimental prosthetic joint infection due to methicillin-resistant Staphylococcus aureus: a microbiologic, histopathologic, and magnetic resonance imaging characterization. J Infect Dis 1996: 174:414-417.
59. Cremieux AC, Mghir AS, Bleton R et al.: Efficacy of sparfloxacin and autoradiographic diffusion pattern of [¹⁴C]Sparfloxacin in experimental Staphylococcus aureus joint prosthesis infection. Antimicrob Agents Chemother 1996: 40:2111-2116.
60. Kalteis T, Beckmann J, Schroder HJ et al.: Treatment of implant-associated infections with moxifloxacin: an animal study. Int J Antimicrob Agents 2006: 27:444-448.
61. Kalteis T, Beckmann J, Schroder HJ et al.: Moxifloxacin superior to vancomycin for treatment of bone infections--a study in rats. Acta Orthop 2006: 77:315-319.
62. Hoogkamp-Korstanje JA, Roelofs-Willemse J: Comparative in vitro activity of moxifloxacin against Gram-positive clinical isolates. J Antimicrob Chemother 2000: 45:31-39.

63. Kaatz GW, Moudgal VV, Seo SM: Identification and characterization of a novel efflux-related multidrug resistance phenotype in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 2002; 50:833-838.
64. Ince D, Zhang X, Hooper DC: Activity of and resistance to moxifloxacin in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:1410-1415.
65. Dalhoff A: Pharmacodynamics of fluoroquinolones. *J Antimicrob Chemother* 1999; 43 Suppl B:51-59.
66. Jones ME, Visser MR, Klootwijk M et al.: Comparative activities of clinafloxacin, grepafloxacin, levofloxacin, moxifloxacin, ofloxacin, sparfloxacin, and trovafloxacin and nonquinolones linozolid, quinupristin-dalfopristin, gentamicin, and vancomycin against clinical isolates of ciprofloxacin-resistant and -susceptible *Staphylococcus aureus* strains. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43:421-423.
67. Lister PD: Pharmacodynamics of moxifloxacin and levofloxacin against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* in an in vitro pharmacodynamic model. *Clin Infect Dis* 2001; 32 Suppl 1:S33-S38.
68. Muller M, Stass H, Brunner M et al.: Penetration of moxifloxacin into peripheral compartments in humans. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43:2345-2349.
69. Joukhadar C, Stass H, Muller-Zellenberg U et al.: Penetration of moxifloxacin into healthy and inflamed subcutaneous adipose tissues in humans. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:3099-3103.
70. Schaad HJ, Chuard C, Vaudaux P et al.: Comparative efficacies of imipenem, oxacillin and vancomycin for therapy of chronic foreign body infection due to methicillin-susceptible and -resistant *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 1994; 33:1191-1200.
71. Schaad HJ, Bento M, Lew DP, Vaudaux P: Evaluation of high-dose daptomycin for therapy of experimental *Staphylococcus aureus* foreign body infection. *BMC Infect Dis* 2006; 6:74.
72. Rissing JP, Buxton TB, Weinstein RS, Shockley RK: Model of experimental chronic osteomyelitis in rats. *Infect Immun* 1985; 47:581-586.
73. Shirtliff ME, Calhoun JH, Mader JT: Comparative evaluation of oral levofloxacin and parenteral nafcillin in the treatment of experimental methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* osteomyelitis in rabbits. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48:253-258.
74. Gisby J, Beale AS, Bryant JE, Toseland CD: Staphylococcal osteomyelitis--a comparison of co-amoxiclav with clindamycin and flucloxacillin in an experimental rat model. *J Antimicrob Chemother* 1994; 34:755-764.
75. Saleh-Mghir A, Ameer N, Muller-Serieys C et al.: Combination of quinupristin-dalfopristin (Synercid) and rifampin is highly synergistic in experimental *Staphylococcus aureus* joint prosthesis infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:1122-1124.
76. Dworkin R, Modin G, Kunz S et al.: Comparative efficacies of ciprofloxacin, pefloxacin, and vancomycin in combination with rifampin in a rat model of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* chronic osteomyelitis. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34:1014-1016.
77. O'Reilly T, Kunz S, Sande E et al.: Relationship between antibiotic concentration in bone and efficacy of treatment of staphylococcal osteomyelitis in rats: azithromycin compared with clindamycin and rifampin. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36:2693-2697.
78. Leshner GY, Froelich EJ, Gruett MD et al.: 1,8-Naphthyridine derivatives. A. new class of chemotherapeutic agents. *J Med Pharm Chem* 1962; 91:1063-1065.

79. Koga H, Itoh A, Murayama S et al.: Structure-activity relationships of antibacterial 6,7- and 7,8-disubstituted 1-alkyl-1,4-dihydro-4-oxoquinoline-3-carboxylic acids. *J Med Chem* 1980: 23:1358-1363.
80. Bayer Vital GmbH. Avalox Fachinformation. 2007.
81. Zhanel GG, Ennis K, Vercaigne L et al.: A critical review of the fluoroquinolones: focus on respiratory infections. *Drugs* 2002: 62:13-59.
82. Pestova E, Millichap JJ, Noskin GA, Peterson LR: Intracellular targets of moxifloxacin: a comparison with other fluoroquinolones. *J Antimicrob Chemother* 2000: 45:583-590.
83. Keating GM, Scott LJ: Moxifloxacin: a review of its use in the management of bacterial infections. *Drugs* 2004: 64:2347-2377.
84. Stass H, Dalhoff A, Kubitz D, Schuhly U: Pharmacokinetics, safety, and tolerability of ascending single doses of moxifloxacin, a new 8-methoxy quinolone, administered to healthy subjects. *Antimicrob Agents Chemother* 1998: 42:2060-2065.
85. Al Nawas B, Shah PM: Intracellular activity of ciprofloxacin and moxifloxacin, a new 8-methoxyquinolone, against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 1998: 41:655-658.
86. Boswell FJ, Andrews JM, Wise R, Dalhoff A: Bactericidal properties of moxifloxacin and post-antibiotic effect. *J Antimicrob Chemother* 1999: 43 Suppl B:43-49.
87. Beckmann J, Kees F, Schaumburger J et al.: Tissue concentrations of vancomycin and Moxifloxacin in periprosthetic infection in rats. *Acta Orthop* 2007: 78:766-773.
88. Simon C, Stille W. (Herausg.): *Antibiotika-Therapie in Klinik und Praxis*. Schattauer, Stuttgart. 10. Auflage. 2000.
89. Sutherland R, Croydon EA, Rolinson GN: Flucloxacillin, a new isoxazolyl penicillin, compared with oxacillin, cloxacillin, and dicloxacillin. *Br Med J* 1970: 4:455-460.
90. Shah P.: Oxacilline. Eine kurze Übersicht. *Chemotherapie Journal* 14.Jahrgang Heft 2, 35-37. 2005.
91. Stragen Pharma GmbH. Fachinformation Fluclox Stragen. 2006.
92. O'Neill AJ, Huovinen T, Fishwick CW, Chopra I: Molecular genetic and structural modeling studies of *Staphylococcus aureus* RNA polymerase and the fitness of rifampin resistance genotypes in relation to clinical prevalence. *Antimicrob Agents Chemother* 2006: 50:298-309.
93. Calfee DP.: Rifamycins. In: Mandell G.L, Bennett J.E., Dolin R.(Herausg): *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Churchill Livingstone, Philadelphia. 6. Auflage. 2005: 374-388.
94. Fatol Arzneimittel. Fachinformation Eremfat. 6 A.D. 2006
95. Nielsen SL, Black FT: Extracellular and intracellular killing in neutrophil granulocytes of *Staphylococcus aureus* with rifampicin in combination with dicloxacillin or fusidic acid. *J Antimicrob Chemother* 1999: 43:407-410.
96. Cluzel RA, Lopitiaux R, Sirot J, Rampon S: Rifampicin in the treatment of osteoarticular infections due to staphylococci. *J Antimicrob Chemother* 1984: 13 Suppl C:23-29.
97. Kees F, Naber KG, Schumacher H, Grobecker H: Penetration of fleroxacin into prostatic secretion and prostatic adenoma tissue. *Chemotherapy* 1988: 34:437-443.
98. Harraghy N, Seiler S, Jacobs K et al.: Advances in in vitro and in vivo models for studying the staphylococcal factors involved in implant infections. *Int J Artif Organs* 2006: 29:368-378.
99. Blaser J, Vergeres P, Widmer AF, Zimmerli W: In vivo verification of in vitro model of antibiotic treatment of device-related infection. *Antimicrob Agents Chemother* 1995: 39:1134-1139.

100. Melcher GA, Claudi B, Schlegel U et al.: Influence of type of medullary nail on the development of local infection. An experimental study of solid and slotted nails in rabbits. *J Bone Joint Surg Br* 1994; 76:955-959.
101. Monzon M, Garcia-Alvarez F, Lacleriga A, Amorena B: Evaluation of four experimental osteomyelitis infection models by using precolonized implants and bacterial suspensions. *Acta Orthop Scand* 2002; 73:11-19.
102. Espersen F, Frimodt-Moller N, Corneliussen L et al.: Experimental foreign body infection in mice. *J Antimicrob Chemother* 1993; 31 Suppl D:103-111.
103. Zimmerli W, Frei R, Widmer AF, Rajacic Z: Microbiological tests to predict treatment outcome in experimental device-related infections due to *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 1994; 33:959-967.
104. Darley ES, MacGowan AP: Antibiotic treatment of gram-positive bone and joint infections. *J Antimicrob Chemother* 2004; 53:928-935.
105. Widmer AF, Frei R, Rajacic Z, Zimmerli W: Correlation between in vivo and in vitro efficacy of antimicrobial agents against foreign body infections. *J Infect Dis* 1990; 162:96-102.
106. Eng RH, Smith SM, Buccini FJ, Cherubin CE: Differences in ability of cell-wall antibiotics to suppress emergence of rifampicin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 1985; 15:201-207.
107. Drancourt M, Stein A, Argenson JN et al.: Oral rifampin plus ofloxacin for treatment of *Staphylococcus*-infected orthopedic implants. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37:1214-1218.
108. Schrenzel J, Harbarth S, Schockmel G et al.: A randomized clinical trial to compare fleroxacin-rifampicin with flucloxacillin or vancomycin for the treatment of staphylococcal infection. *Clin Infect Dis* 2004; 39:1285-1292.
109. Blondeau JM: A review of the comparative in-vitro activities of 12 antimicrobial agents, with a focus on five new respiratory quinolones'. *J Antimicrob Chemother* 1999; 43 Suppl B:1-11.
110. Pong A, Thomson KS, Moland ES et al.: Activity of moxifloxacin against pathogens with decreased susceptibility to ciprofloxacin. *J Antimicrob Chemother* 1999; 44:621-627.
111. Firsov AA, Vostrov SN, Lubenko IY et al.: In vitro pharmacodynamic evaluation of the mutant selection window hypothesis using four fluoroquinolones against *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:1604-1613.
112. Shirtliff ME, Calhoun JH, Mader JT: Gatifloxacin efficacy in treatment of experimental methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*-induced osteomyelitis in rabbits. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:231-233.
113. Frippiat F, Meunier F, Derue G: Place of newer quinolones and rifampicin in the treatment of Gram-positive bone and joint infections. *J Antimicrob Chemother* 2004; 54:1158.
114. Rodvold KA, Neuhauser M: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of fluoroquinolones. *Pharmacotherapy* 2001; 21:233S-252S.
115. Stass H, Kubitz D, Schuhly U: Pharmacokinetics, safety and tolerability of moxifloxacin, a novel 8-methoxyfluoroquinolone, after repeated oral administration. *Clin Pharmacokinet* 2001; 40 Suppl 1:1-9.
116. Cunha BA: Intravenous to oral antibiotic switch therapy. *Drugs Today (Barc)* 2001; 37:311-319.

ANHANG

Abkürzungsverzeichnis

BSG	Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit
cm	Zentimeter
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
die	Tag
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ex/em	Excitation/emission
g	Gramm
G	Gauge
h	Stunde
i.m.	intramuskulär
i.p.	intraperitoneal
i.v.	intravenös
KBE	Kolonie-bildende Einheiten
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
l	Liter
max	Maximum
MHK	Minimale Hemmkonzentration
min	Minimum
min	Minuten
ml	Mililiter
mm	Milimeter
MRSA	Methicillin-resistenter <i>S. aureus</i>
MRT	Magnetresonanztomographie
MSSA	Methicillin-sensibler <i>S. aureus</i>
µl	Mikroliter
µg	Mikrogramm
NaCl	Natriumchlorid
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
OP	Operation
PCR	Polymerase-Ketten-Reaktion
PET	Positronenemissionstomographie
pg	Pikogramm
RNA	Ribonukleinsäure
s.c.	subkutan
SD	Standardabweichung
TEP	Totalendoprothese

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Biofilms.....	4
Abbildung 2: Algorithmus zur Therapie periprotetischer Infektionen.....	10
Abbildung 3: Algorithmus zur Therapie periprotetischer Infektionen (Keine Retention des Implantats).....	11
Abbildung 4: Strukturformel von Moxifloxacin	22
Abbildung 5: Klasse der Isoxazolylpenicilline	25
Abbildung 6: Chemische Struktur des Rifampicins	27
Abbildung 7: Implantate.....	31
Abbildung 8: Eröffnetes linkes Kniegelenk mit Blick auf die distalen Femurkondylen	40
Abbildung 9 : Retrogrades Aufbohren des distalen linken Femurs interkondylär,.....	40
Abbildung 10: Injektion der Bakteriensuspension in den eröffneten Markraum.....	40
Abbildung 11: Distales Femur mit interkondylär eingebrachtem Implantat.....	40
Abbildung 12: Postoperativer Wundverschluss	40
Abbildung 13: Röntgenbild (Lage des Implantats im Femur)	40
Abbildung 14: Linkes Femur eines Versuchstieres.....	49
Abbildung 15: Röntgenbild (mit Fremdkörperinfektion und Arthritis)	50

Tabellen

Tabelle 1: Antibiotische Therapie von Gelenkprotheseninfektionen.....	14
Tabelle 2: Vorgehen und Zeitplan der Vorversuche	34
Tabelle 3: Vorgehen und Zeitplan der Hauptversuche.....	37
Tabelle 4: Versuchsgruppen der Hauptversuche.....	38
Tabelle 5: Entwicklung des Körpergewichts während der Vorversuche	44
Tabelle 6: Plasmakonzentration von Flucloxacillin	45
Tabelle 7: Plasma- und Gewebekonzentrationen von Moxifloxacin	46
Tabelle 8: Entwicklung des Körpergewichts während der Hauptversuche.....	49
Tabelle 9: Mittelwerte, Standardabweichung und Median der Keimzahlen im periartikulärem Weichteilgewebe	52
Tabelle 10: Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests: periartikuläres Weichteilgewebe	53
Tabelle 11: Mittelwerte, Standardabweichung und Median der Keimzahlen im Knochen des linken Femurs.....	54
Tabelle 12: Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests: Knochengewebe des Femurs	55

Tabelle 13: Mittelwerte, Standardabweichung und Median der Keimzahlen im Biofilm des Implantats	56
Tabelle 14: Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests: Biofilm des Implantats.....	56

Graphiken

Graphik 1: Plasma- und Gewebekonzentration von Moxifloxacin.....	46
Graphik 2: Boxplot: Keimzahlen im periartikulären Weichteilgewebe.....	52
Graphik 3: Boxplot: Keimzahlen im Knochengewebe	54
Graphik 4: Boxplot: Keimzahlen im Biofilm des Implantats	56

Danksagung

Bedanken möchte ich mich besonders bei Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. Joachim Grifka für die Möglichkeit, meine Dissertation in seiner Abteilung durchführen zu können.

Mein herzlicher Dank gilt dem Betreuer meiner Dissertation, Herrn Dr. med. Jens Schaumburger, für die hilfreiche Unterstützung bei der Durchführung und Ausarbeitung dieser Dissertation.

Ebenso bedanken möchte ich mich bei PD Dr. med. Thomas Kalteis für die ursprüngliche Überlassung des Themas.

Ich danke allen Kollegen und Mitarbeitern, die mich bei der Durchführung und Auswertung der Versuche unterstützt haben; insbesondere Frau Dr. Welmoed Silvis und Frau Gabriele Bachl vom Mikrobiologischen Institut des Universitätsklinikums Regensburg, Herrn Prof. Dr. Frieder Kees vom pharmakologischen Institut des Universitätsklinikums Regensburg, Herrn Prof. Dr. Hans Kiesl von der Fakultät Informatik und Mathematik der Fachhochschule Regensburg sowie den Mitarbeitern des Tierstalls unter Leitung von Herrn Engelbert Meier.

Danke an die Firma Bayer, die das Moxifloxacin zur Verfügung stellte und eine finanzielle Unterstützung gewährte.

Ich danke ganz besonders meiner Familie für die Geduld, Motivation und Unterstützung.

Curriculum vitae

Name	Christine Silvia Anna Scheuerer
Geburtsdatum	25.10.1982
Geburtsort	Regensburg
Ausbildung	1989-1993 Grundschule Regensburg-Burgweinting 1993-2002 Gymnasium Neutraubling, Abitur 2002-2008 Studium der Humanmedizin an der Universität Regensburg: 18.08.2004 Physikum 02.12.2008 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
2009-2011	Assistenzärztin an der Nuklearmedizinischen Klinik und Poliklinik des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München
seit Juli 2011	Assistenzärztin in der Transfusionsmedizinischen und Hämostaseologischen Abteilung des Universitätsklinikums Erlangen